

# Physiopathologie des infections ostéo-articulaires

## Entre virulence et persistance

---

Florent Valour

[florent.valour@chu-lyon.fr](mailto:florent.valour@chu-lyon.fr)

Service des maladies infectieuses et tropicales  
Centre de référence pour la prise en charge des IOA complexes (CRIOAc Lyon)  
Hospices Civils de Lyon



INSERM U1111 – Equipe « Pathogénèse des infections à staphylocoques »  
Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI)  
Université Claude Bernard Lyon 1



1993 Mohamed, 14 ans, pas d'antécédent

Tableau brutal : fièvre à 39°C avec frissons, douleurs et impotence fonctionnelle du MI gauche

Arthrite du genou clinique + douleur intense à la palpation de l'épiphyse fémorale inférieure

Hémocultures positives à *S. aureus* méti-S (par ailleurs multi-sensible)

Radiographies simples normale

Echo : épanchement articulaire, pas de collection. Ponction positive à MSSA

Diagnostic d'**OSTÉOMYÉLITE AIGUË HÉMATOGÈNE**

OXACILLINE IV + acide fusidique

Rash à J8 : relais à J8 par CLINDAMYCINE per os pour 6 semaines au total

Bonne évolution immédiate

Douleurs récidivantes (quelques jours, tous les hivers)



2015-16

36 ans, préparateur de commandes

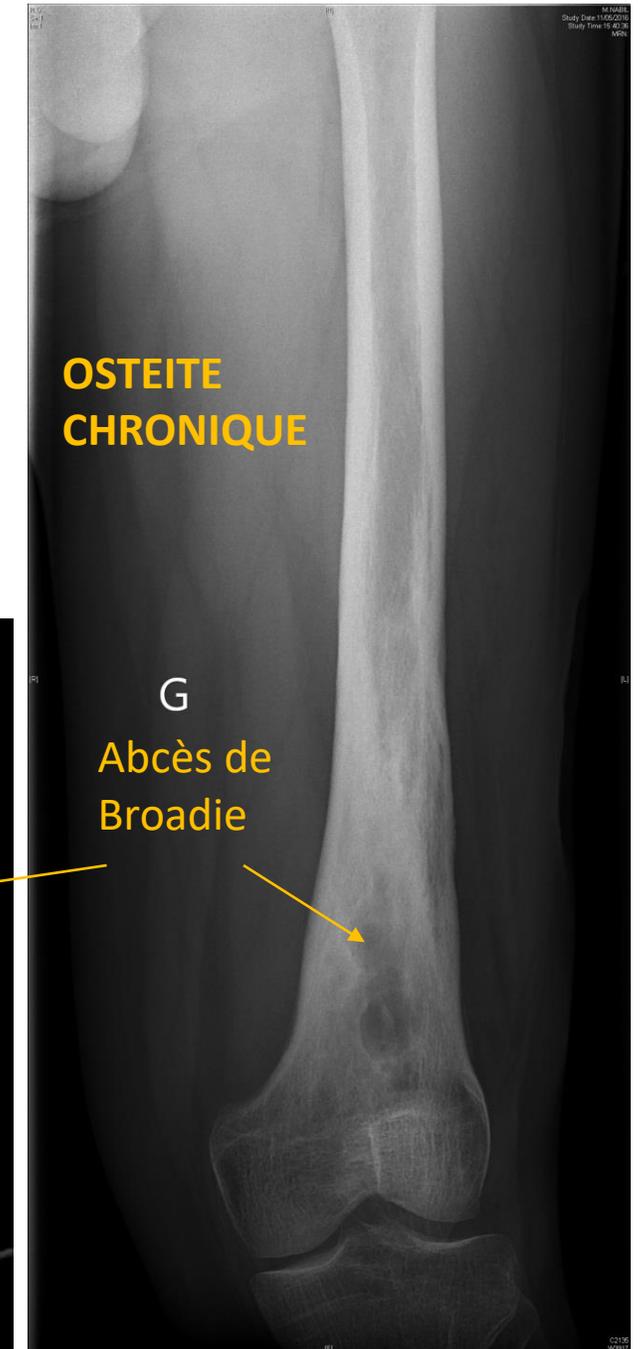
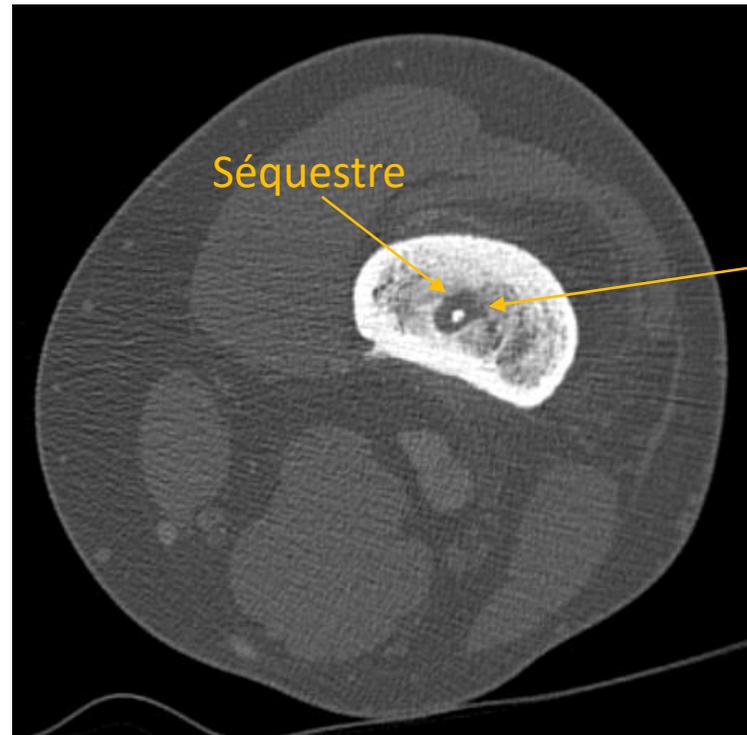
Persistance de l'épisode douloureux hivernal ...  
Douleurs devenant continues, insomniantes avec boiterie

## OSTEITE (très) CHRONIQUE

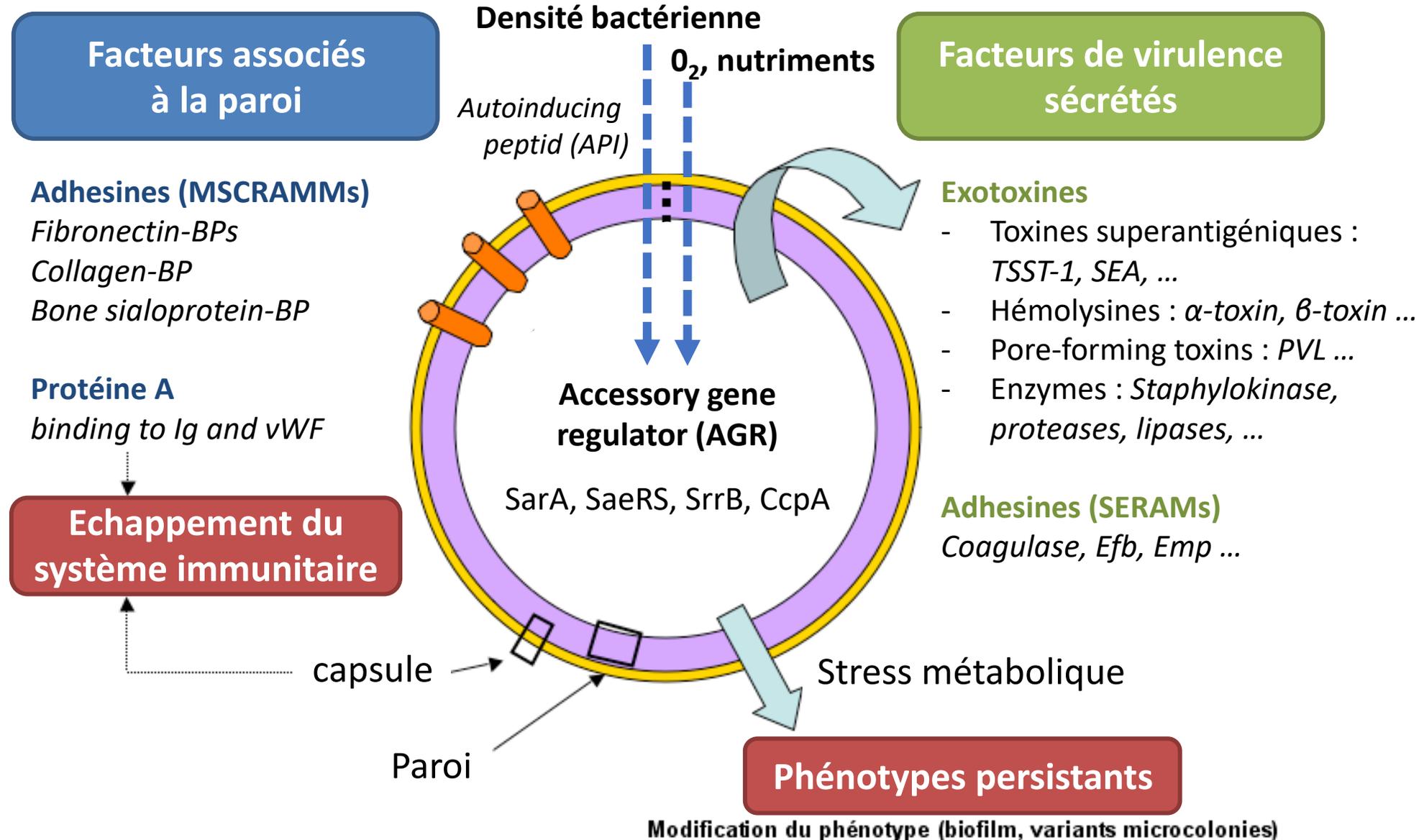
Fémorotomie, curetage  
Prlvmts : stériles, PCR 16+ MSSA – Redon + MSSA

CEFAZOLINE – RIFAM (2 sem)  
RIFAM – OFLOXACINE (total : 3 ms)

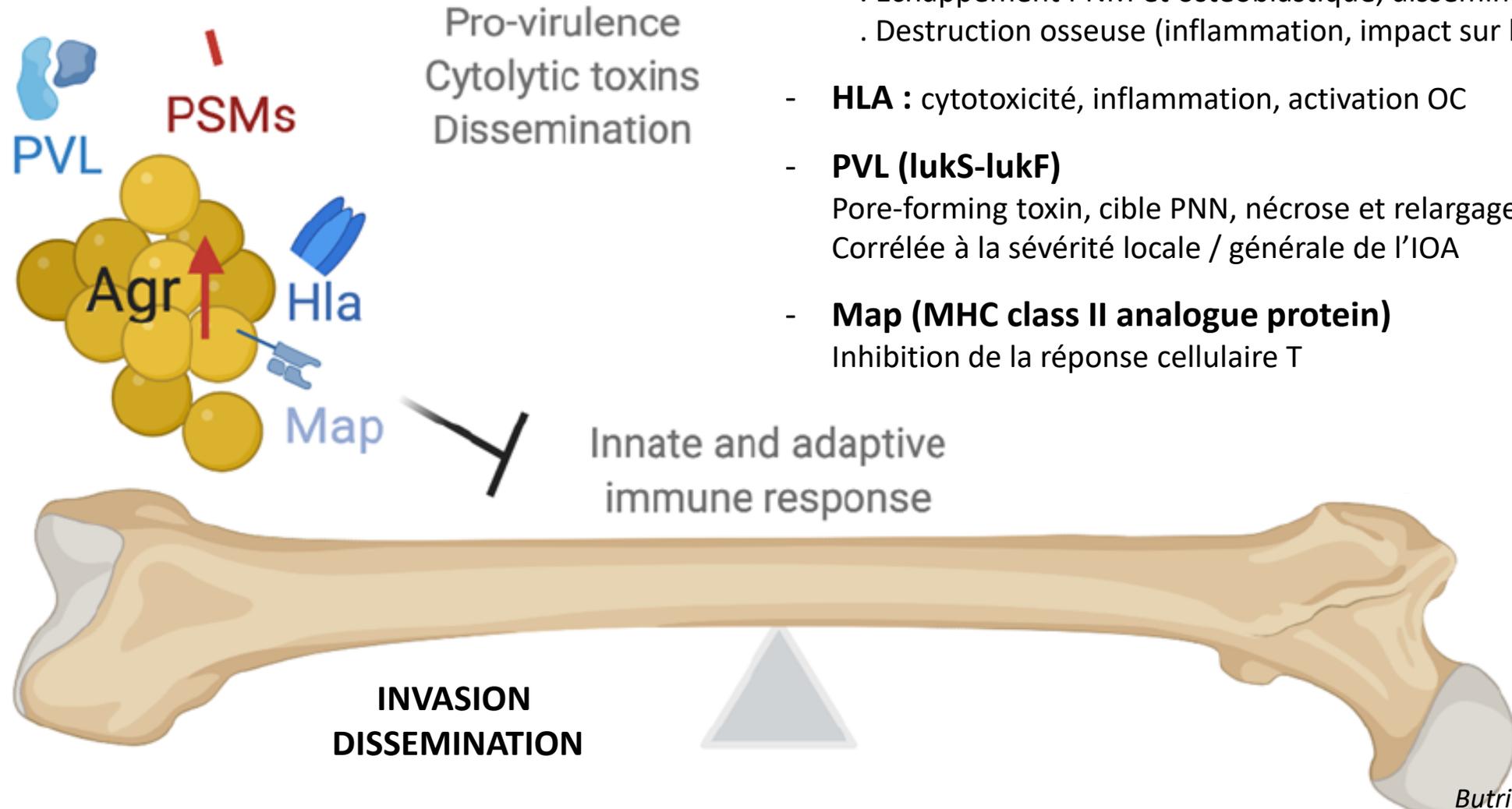
Bonne évolution



# Staphylococcus aureus : entre virulence et persistance

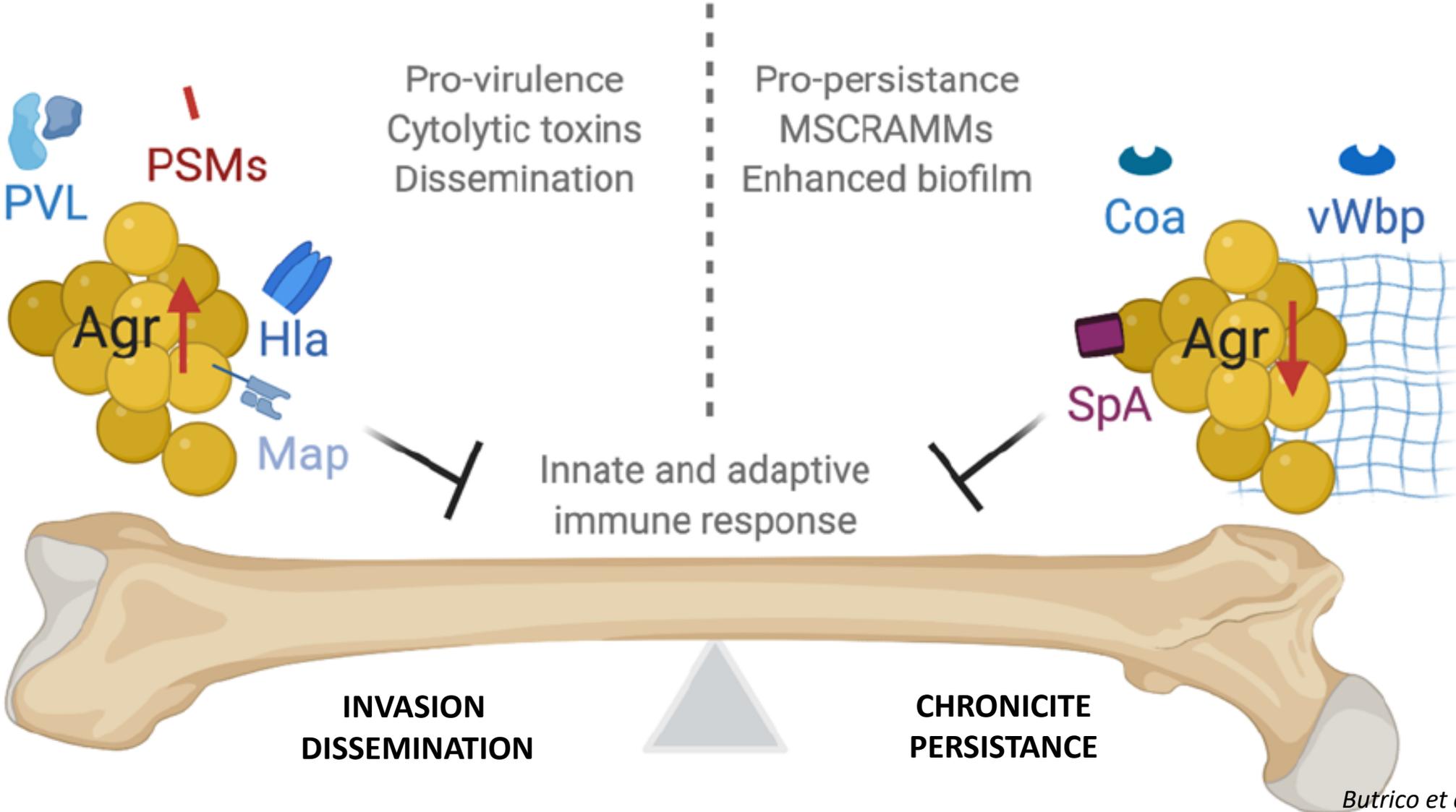


# Initiation de l'infection : toxines et adhésines

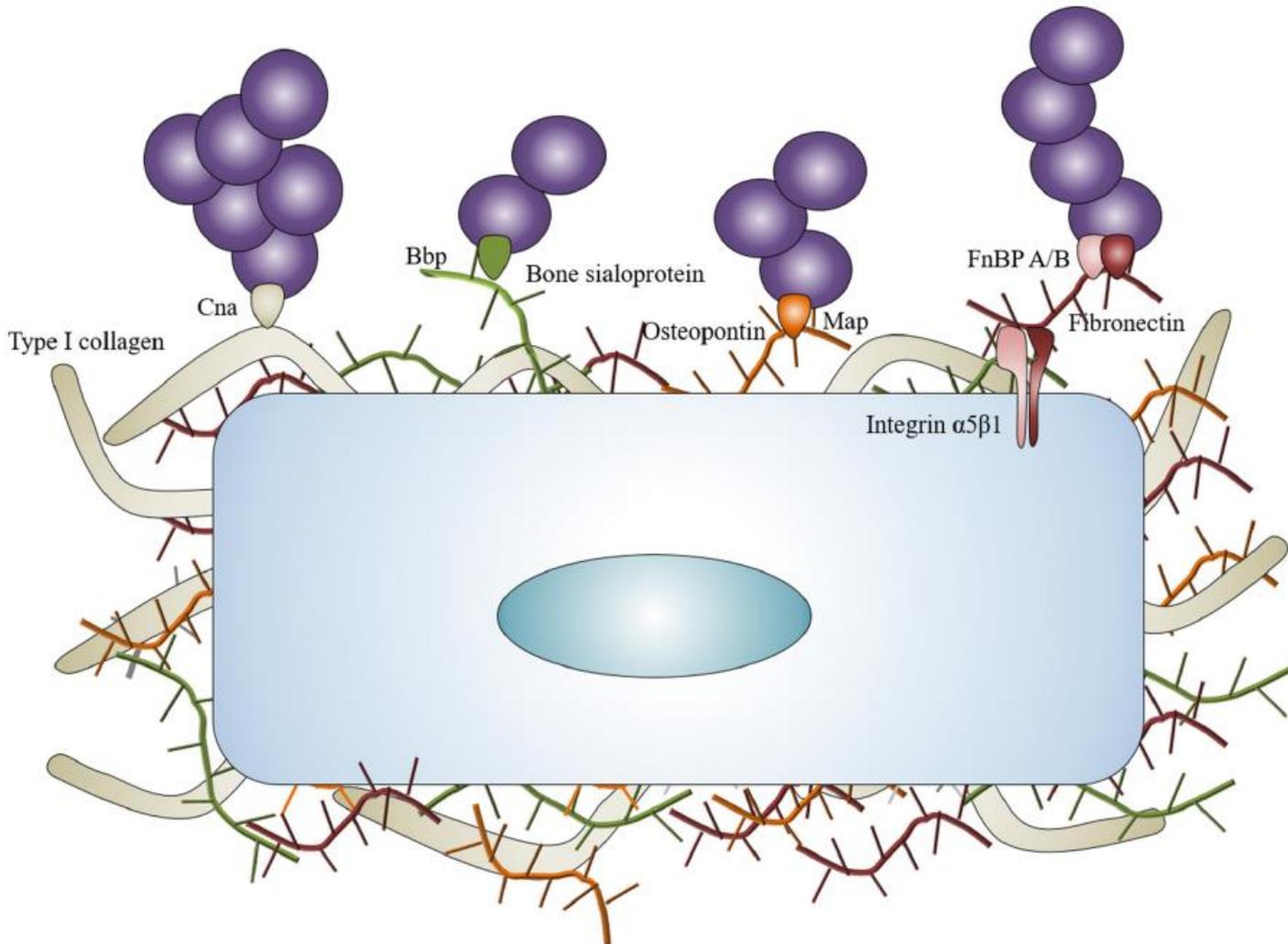


- **PSMs :  $\alpha$  et  $\beta$ , delta-hémolysine (hld)**
  - . Cytotoxicité (incluant cellules osseuses)
  - . Activation neutrophilique et relargage cytokinique
  - . Echappement PNM et ostéoblastique, dissémination
  - . Destruction osseuse (inflammation, impact sur le remodelage)
- **HLA** : cytotoxicité, inflammation, activation OC
- **PVL (lukS-lukF)**  
Pore-forming toxin, cible PNN, nécrose et relargage cytokinique  
Corrélée à la sévérité locale / générale de l'IOA
- **Map (MHC class II analogue protein)**  
Inhibition de la réponse cellulaire T

# Initiation de l'infection : toxines et adhésines



# Initiation de l'infection : toxines et adhésines



## IOA d'INOCULATION

Quantité de *S. aureus* nécessaire à l'obtention d'une infection / 100 000 en présence de matériel

*Idem S. epidermidis, P. acnes*

*Elek et al 1957 – Zimmerli et al, JID 1982*

## IOA HEMATOGENES

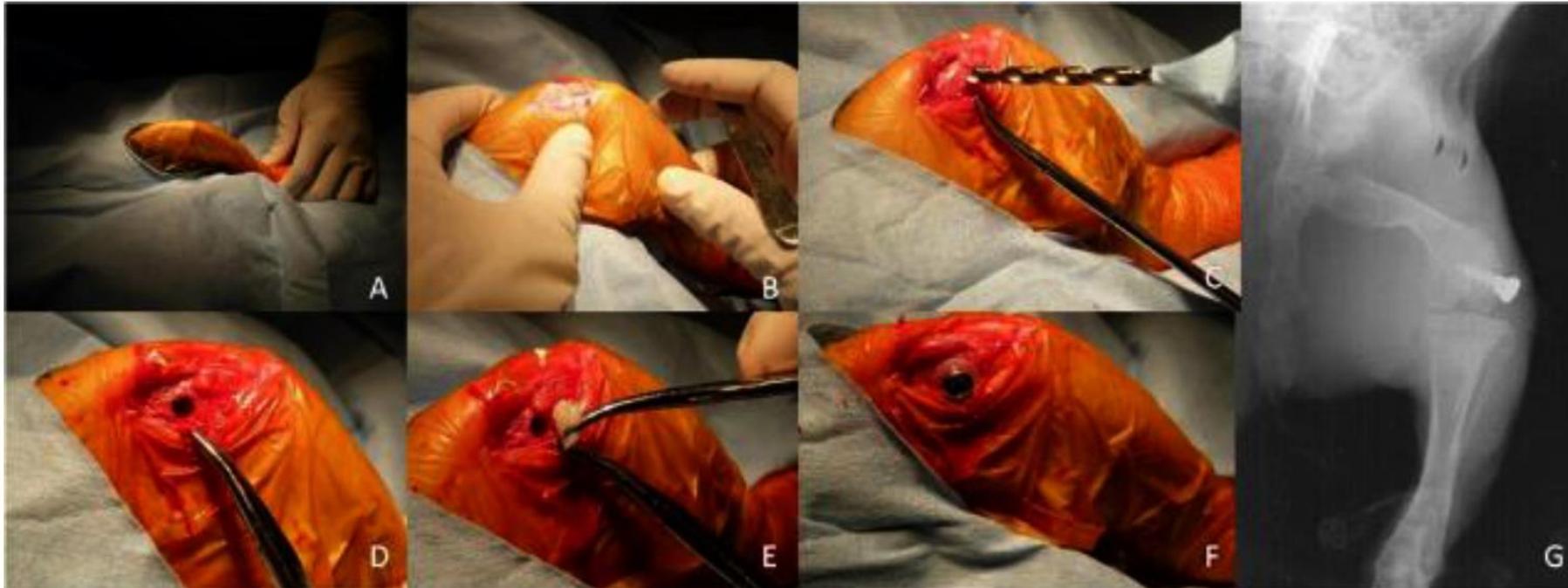
Sendi	2010	30	40%
Murdoch	2001	44	34%
Lalani	2008	29	38%

**Risque de greffe bactérienne en cas de bactériémie  
*S. aureus* = 40% vs autres germes = 1-2%**



# Implications thérapeutiques : thérapies et prophylaxies ciblées ?

Modèle lapin d'infection de prothèse articulaire à *S. aureus* USA300

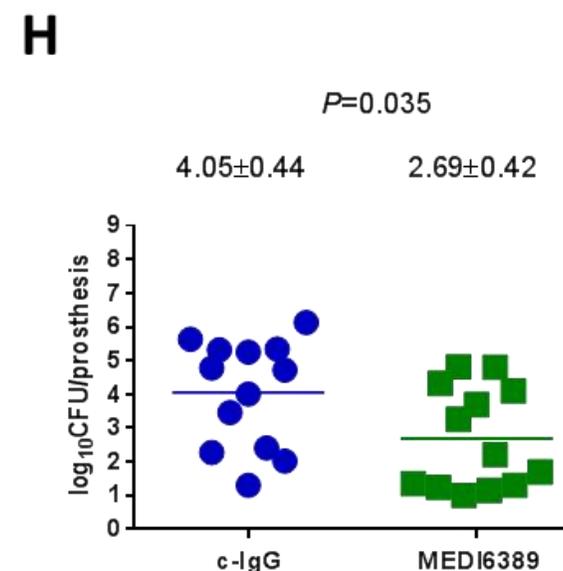
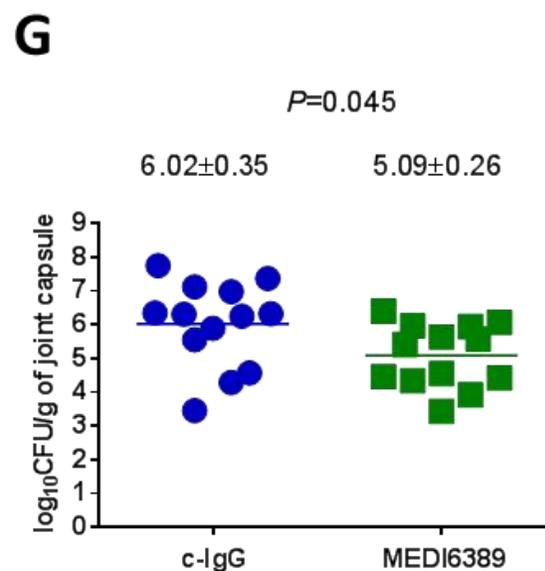
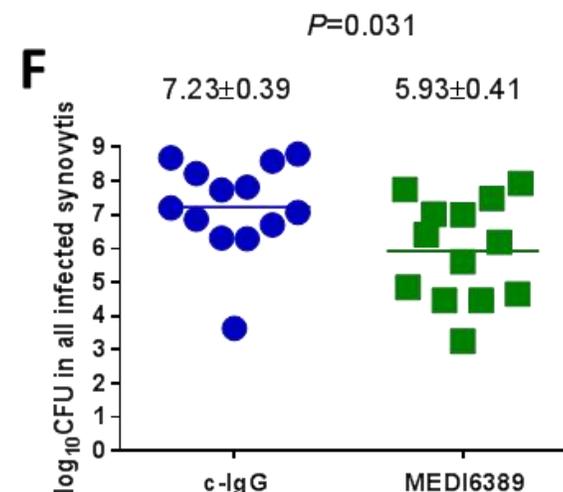
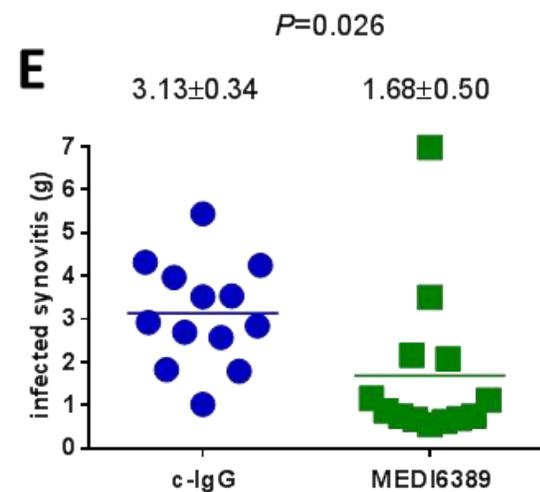
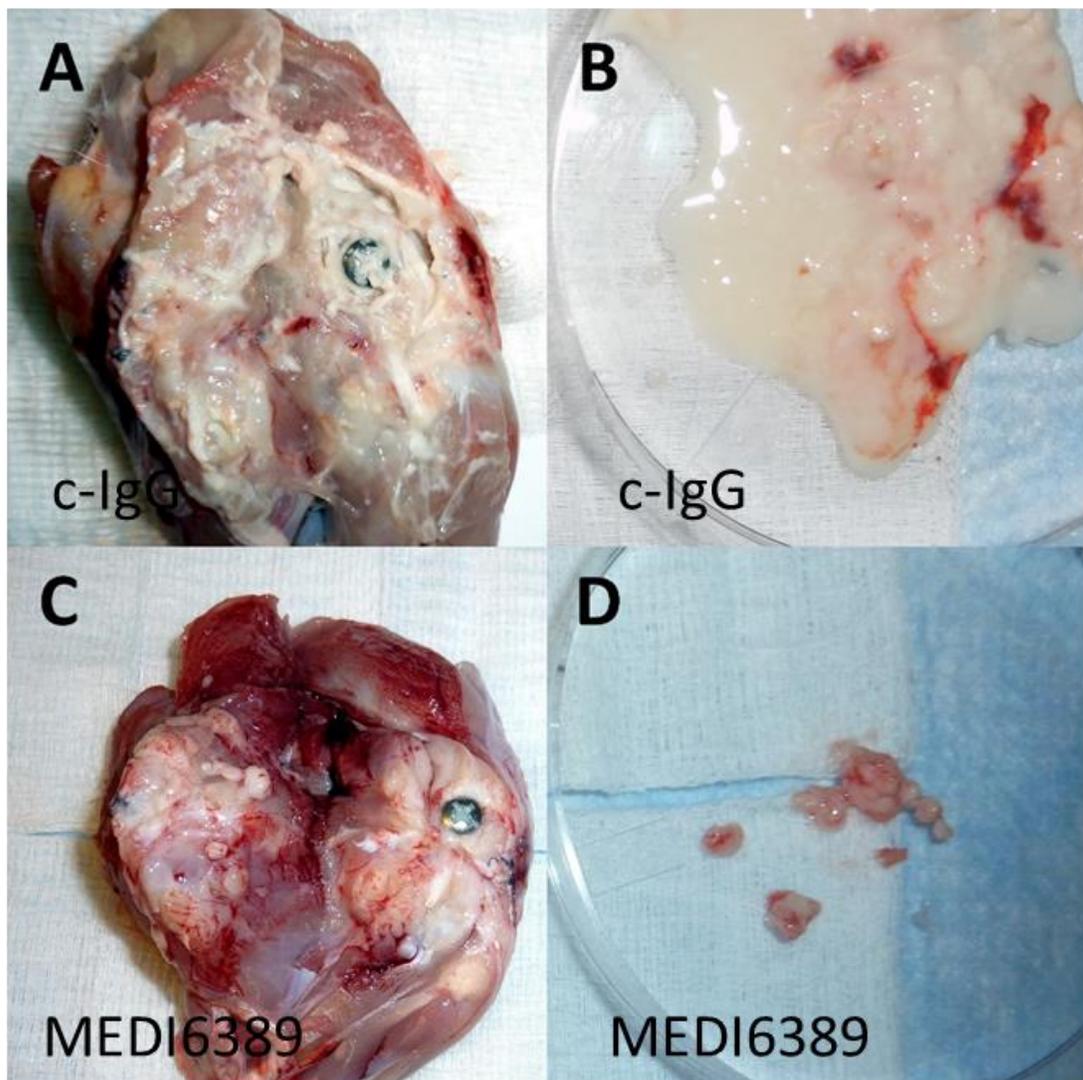


Randomisation pour injection 12h pré-opératoire

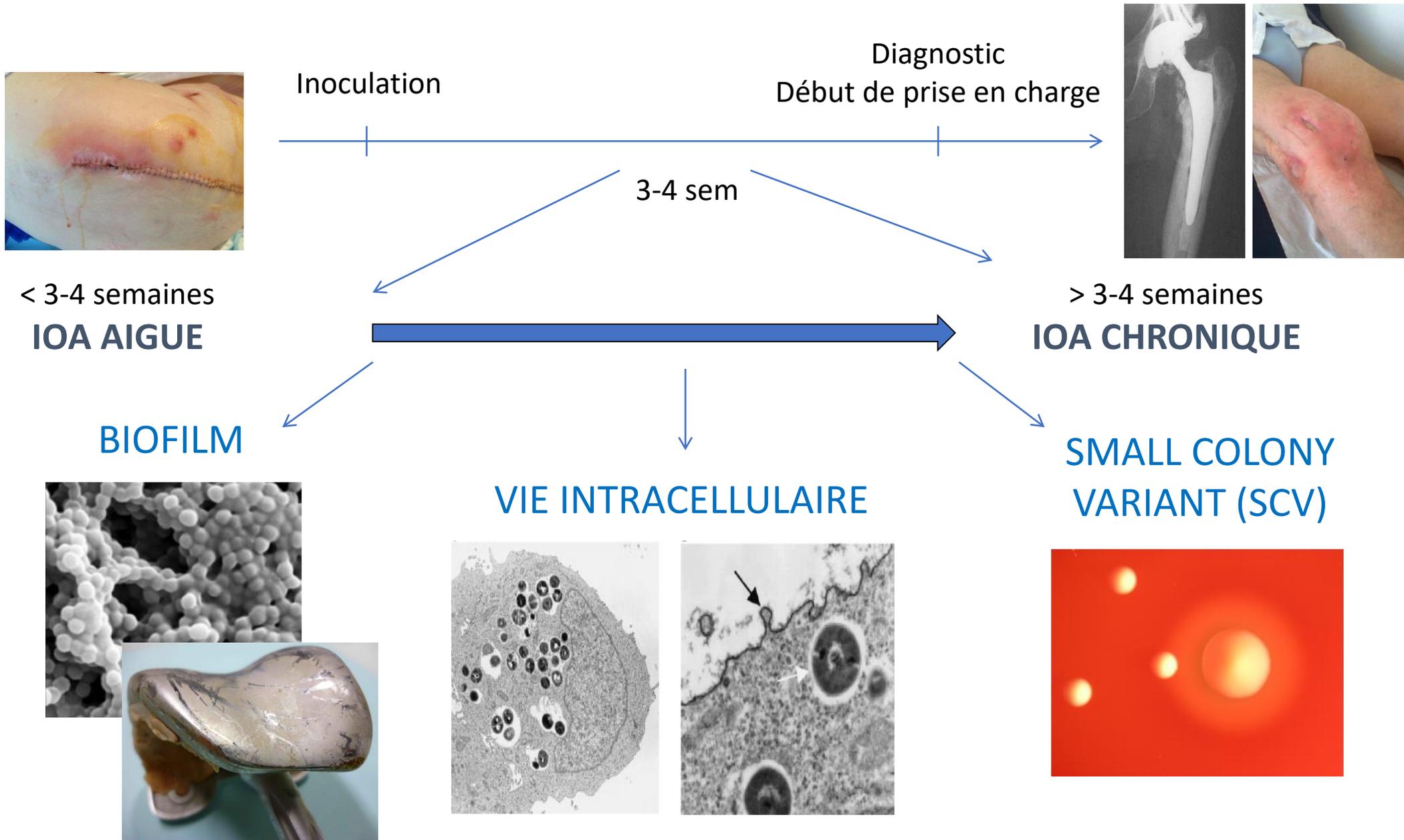
- Ig polyvalentes
- MEDI6389 : mAb anti-*S. aureus* ciblant AT, PVL, lukED, gamma-hémolysine et ClfA



# Implications thérapeutiques : thérapies et prophylaxies ciblées ?

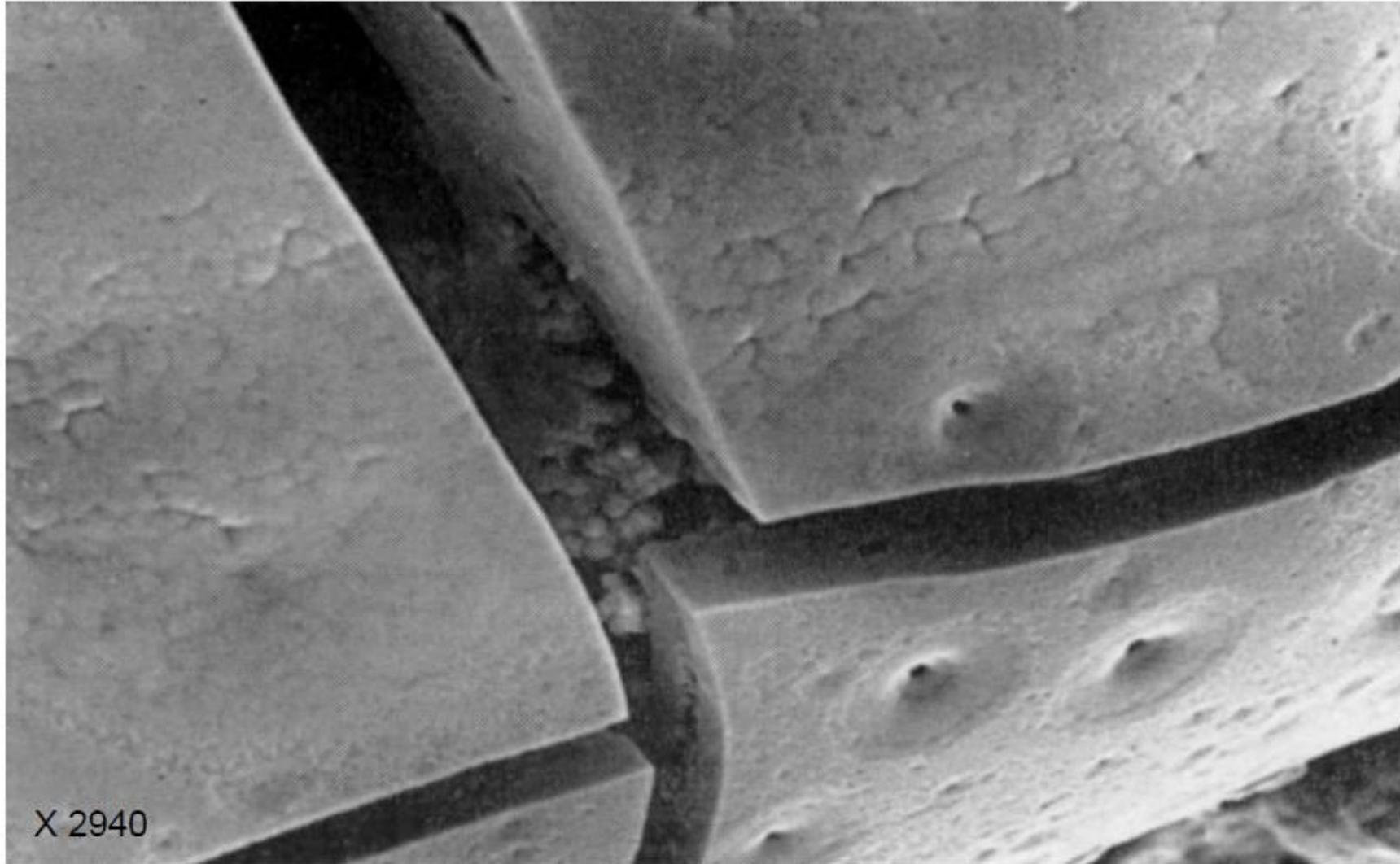


# Chronicité : importance du concept



# Biofilm

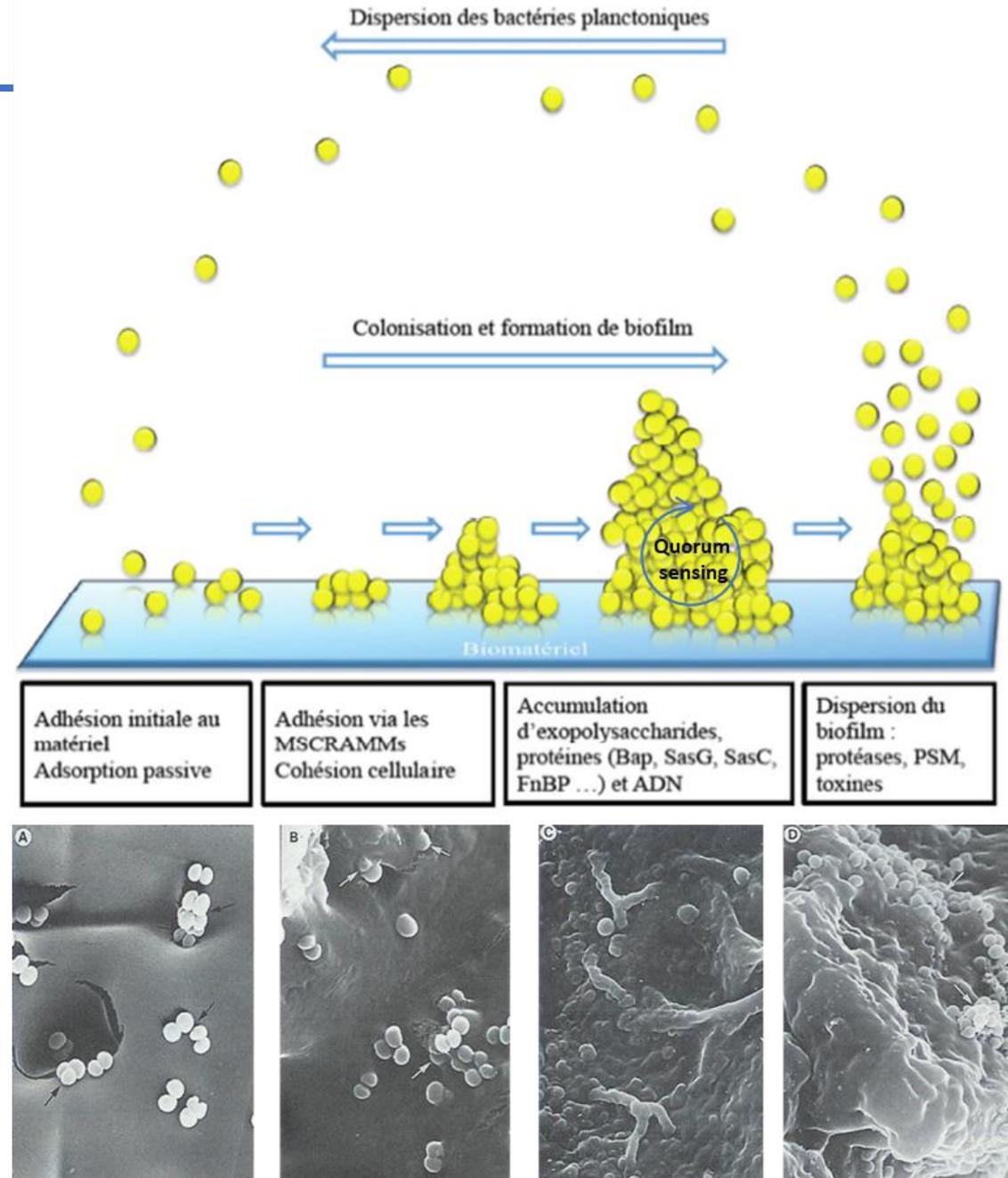
---



**Biofilm et séquestre osseux**  
Evans et al. *Clin Orthop* 1998: 243-249

# Biofilm

- **Adhésion**  
Adhésines
- **Multiplication**
- **Cohésion**  
PNAG (*ica*), FnBP, ADN ...
- **Maturation**
- **Coordination : « quorum sensing »**  
(densité bactérienne, environnement)





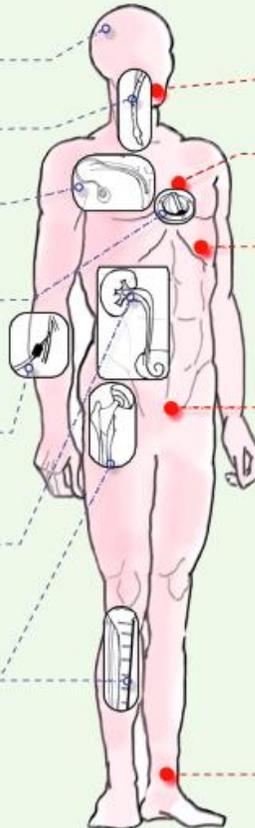
# Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

ESCMID GUIDELINES

## ESCMID\* guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014

### Infections liées au matériel

- Dérivations ventriculaires
- Sondes oro-trachéales
- Cathéters vasculaires centraux (artériels et veineux)
- Valves cardiaques et stimulateurs cardiaques
- Cathéters vasculaires périphériques
- Sondes sur voies urinaires (urétrales et urétérales)
- Prothèses articulaires et matériels d'ostéosynthèse



### Infections chroniques

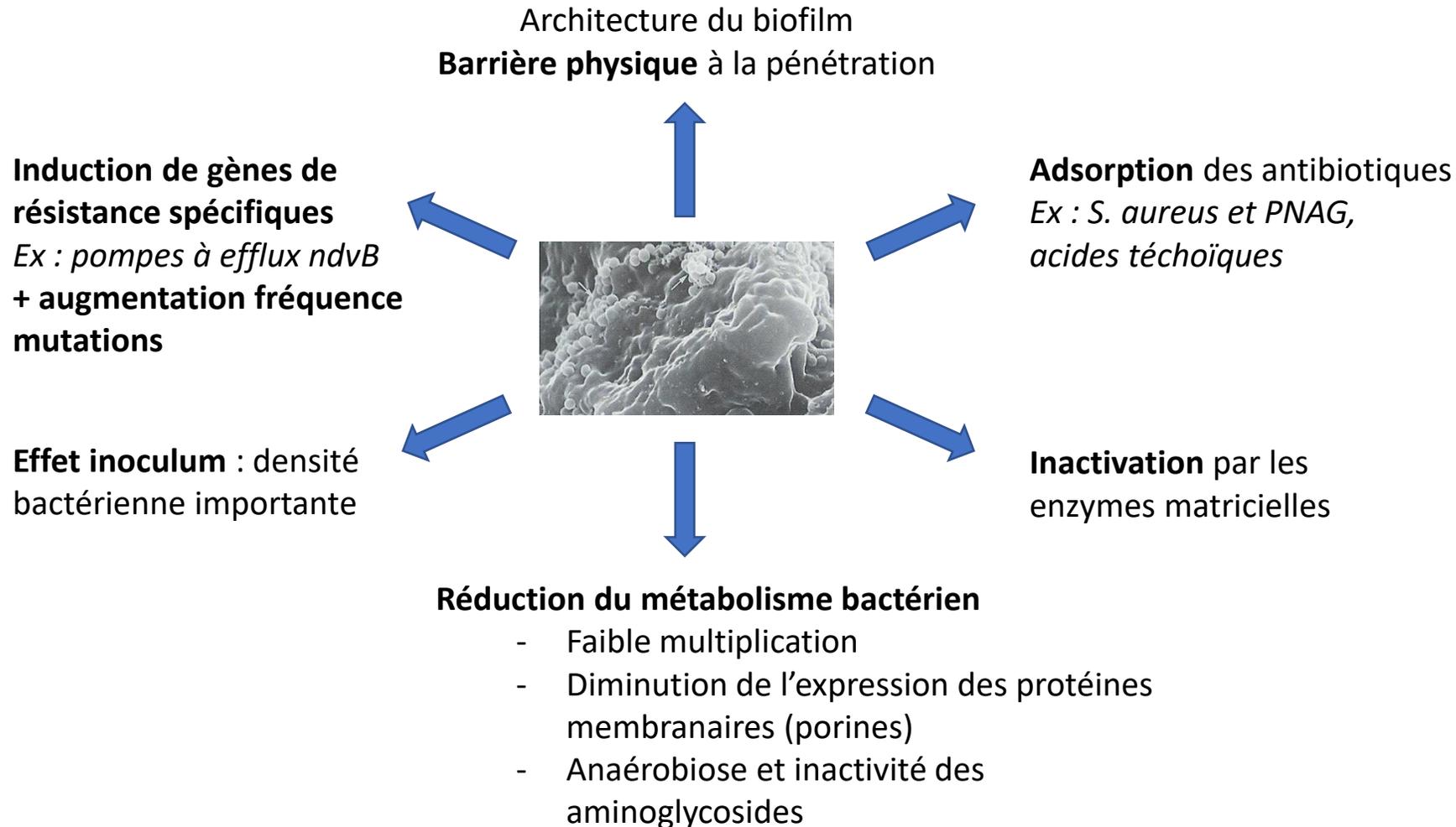
- Pathologies buccodentaires et ORL (caries, stomatites, otites chroniques)
- Endocardites infectieuses
- Pneumopathies chez les patients atteints de mucoviscidose
- Infections urinaires récurrentes
- Infections associées aux plaies chroniques

- Aucun test de sensibilité aux antibiotiques des bactéries en biofilm n'est prédictif du succès thérapeutique actuellement
- En cas d'infection sur matériel, éradication par ATB seuls possible uniquement si évolution  $\leq 3$  (hématogène) à 4 (inoculation) sem
- Importance des ATB « anti-biofilm », notamment en cas de traitement conservateur



# Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

## Mécanisme de « tolérance » aux antibiotiques ( $\neq$ résistance)





# Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

## Role of Biofilms in Antimicrobial Resistance

RODNEY M. DONLAN *ASAIO Journal 2000*

Table 2. Antibiotic Susceptibility of *P. aeruginosa* ATCC 27853 as a Planktonic Population (MIC) and as a Biofilm Population (MBEC) as Derived by the NCCLS Assay and an Assay with the CBD\*

Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) NCCLS Assay†	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) Assay with CBD†	MBEC ( $\mu\text{g/ml}$ ) $A_{650}$ †	MBEC ( $\mu\text{g/ml}$ ) 0 CFU/peg‡
Amikacin	2	4	16	16
Aztreonam	2	4	>1,024	>1,024
Ceftazidime	1	2	>1,024	>1,024
Ciprofloxacin	0.25	0.25	4	4
Gentamicin	2	4	128	128
Imipenem	1	4	>1,024	>1,024
Piperacillin	2	16	>1,024	>1,024
Tobramycin	0.5	1	2	2



Table 3. Antibiotic Susceptibility of *S. aureus* ATCC 29213 as a Planktonic Population (MIC) and as a Biofilm Population (MBEC) Derived by the NCCLS Assay and an Assay with the CBD\*

Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) NCCLS assay†	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) Assay with CBD†	MBEC ( $\mu\text{g/ml}$ ) $A_{650}$ †	MBEC ( $\mu\text{g/ml}$ ) 0 CFU/peg‡
Cefazolin	0.5	0.5	>1,024	>1,024
Ciprofloxacin	0.25	0.5	512	512
Clindamycin	0.12	0.25	128	256
Gentamicin	0.5	0.5	2	2
Oxacillin	0.12	0.25	>1,024	>1,024
Penicillin	1	4	128	128
Vancomycin	1	1	>1,024	>1,024





# Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

*J Antimicrob Chemother* 2014; **69** Suppl 1: i37–i40  
doi:10.1093/jac/dku254

Journal of  
Antimicrobial  
Chemotherapy

## Impact of bacterial biofilm on the treatment of prosthetic joint infections

Cédric Jacqueline\* and Jocelyne Caillon

Antibiotics	Inhibition of biofilm formation (adhesion)	Biofilm penetration	Bactericidal activity in biofilm
Vancomycin	+	++	+
Linezolid	+	++	+
Daptomycin	+	+++	++
Rifampicin	+	+++	++
Moxifloxacin	+	++	++
Rifampicin + daptomycin	+	+++	+++
Rifampicin + vancomycin	+	++	++
Rifampicin + linezolid	+	+++	+++

# Interactions avec les cellules osseuses

---

Van de Velde H.

Etude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène.

*La Cellule* 1894;10:403-60.



## THE SURVIVAL OF STAPHYLOCOCCI WITHIN HUMAN LEUKOCYTES\*

BY DAVID E. ROGERS,† M.D., AND RALPH TOMPSETT, M.D.

*(From the Department of Medicine, New York Hospital-Cornell  
Medical Center, New York)*

PLATES 8 TO 10

(Received for publication, October 10, 1951)

# Interactions avec les cellules osseuses

---

*Staphylococcus aureus* persistence in non-professional phagocytes

Bettina Löffler\*, Lorena Tuchscher, Silke Niemann, Georg Peters

International Journal of Medical Microbiology 304 (2014) 170-176

Décrit avec de nombreux types cellulaires

- Cellules endothéliales
- Cellules épithéliales
- Kératinocytes
- Fibroblastes
- Leucocytes

# Interactions avec les cellules osseuses

*Staphylococcus aureus* persistence in non-professional phagocytes

Bettina Löffler\*, Lorena Tuchscher, Silke Niemann, Georg Peters

International Journal of Medical Microbiology 304 (2014) 170-176

Décrit avec de nombreux types cellulaires

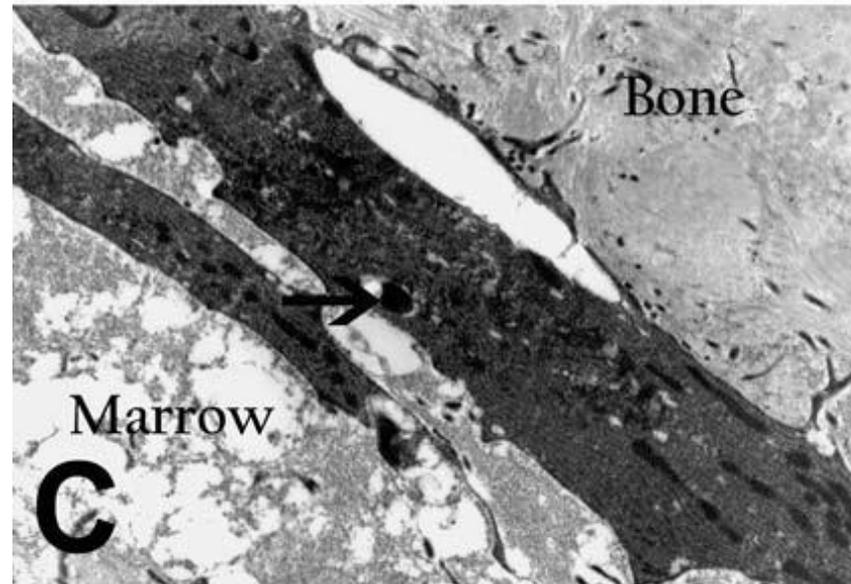
- Cellules endothéliales
- Cellules épithéliales
- Kératinocytes
- Fibroblastes
- Leucocytes
- .... **et les cellules osseuses !**

Mini Review

Interaction of staphylococci with bone

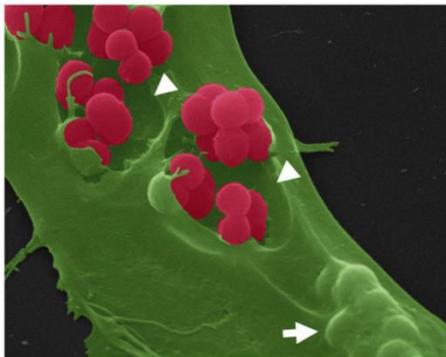
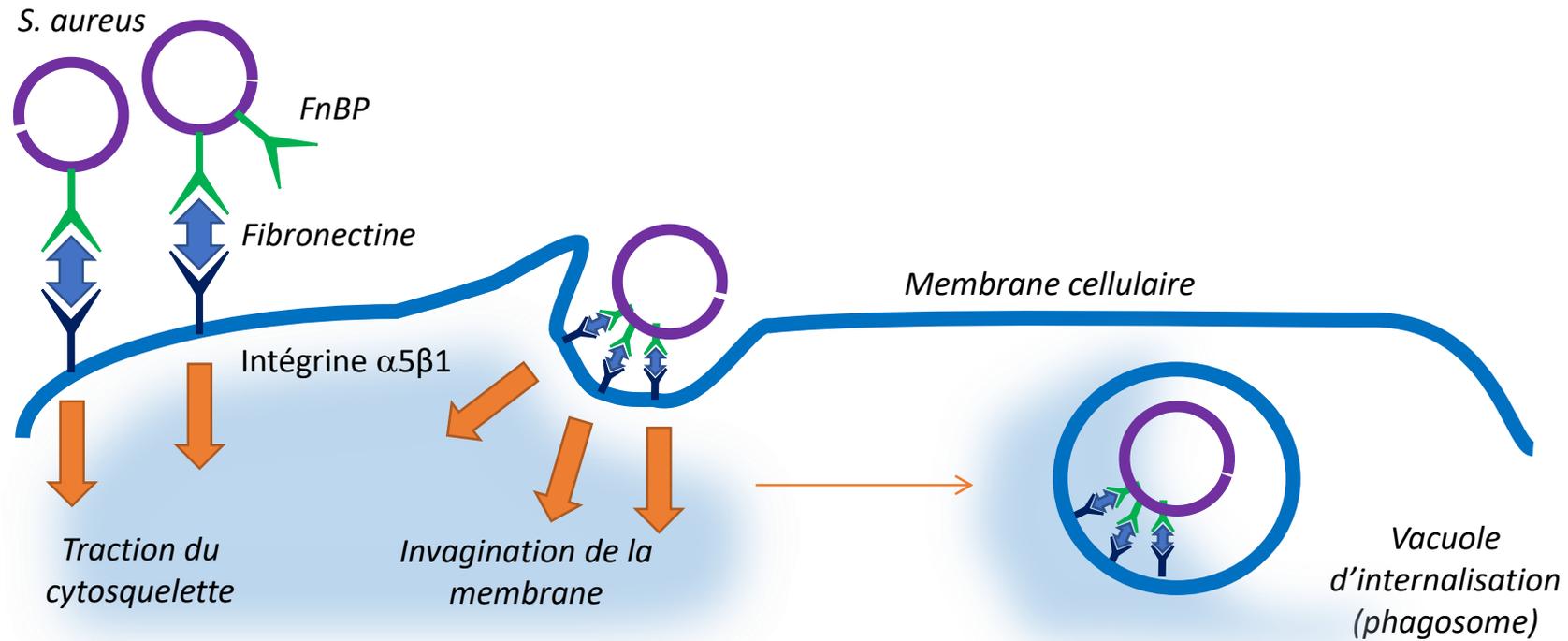
John A. Wright, Sean P. Nair\*

International Journal of Medical Microbiology 300 (2010) 193-204



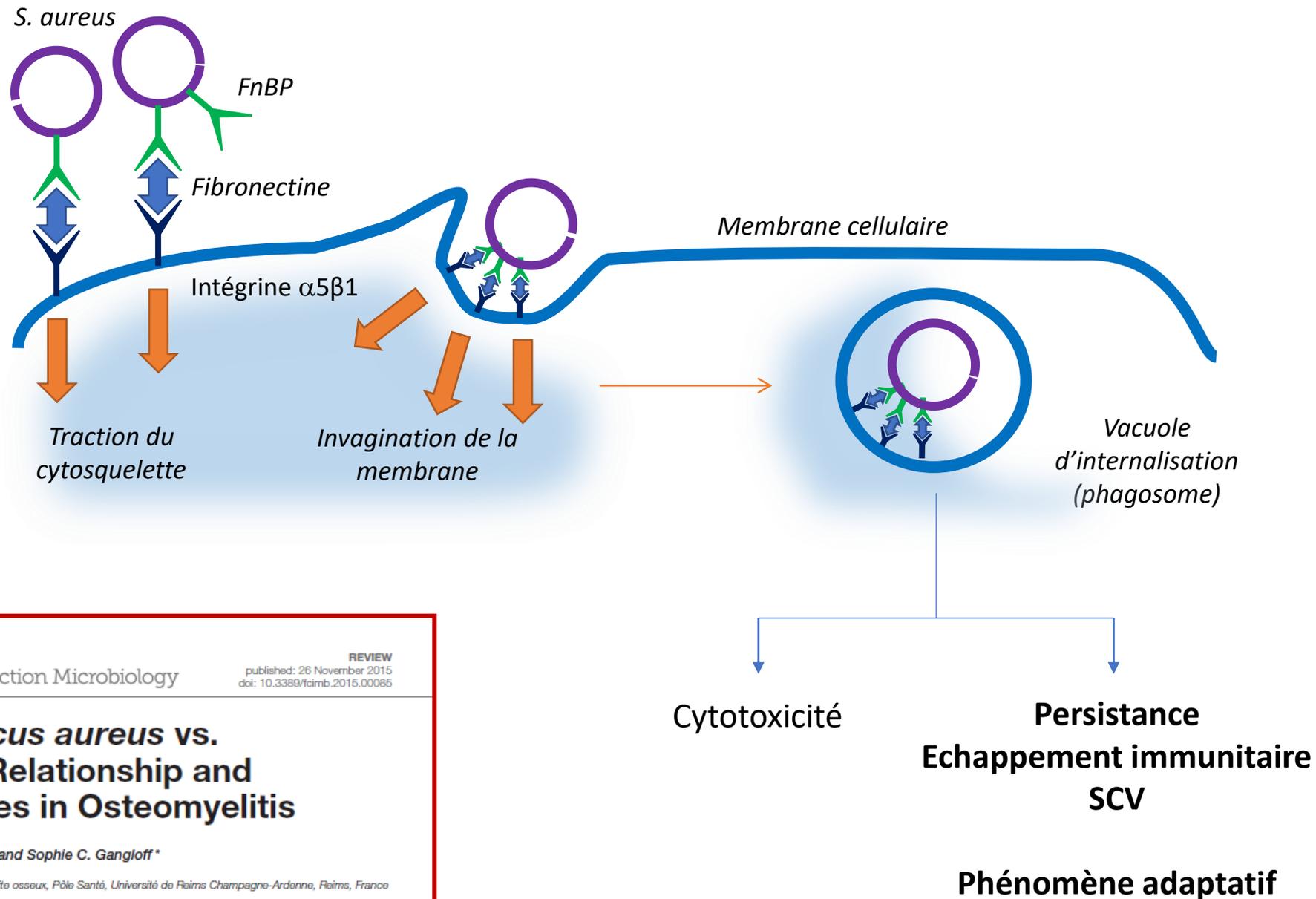
*Bosse, 2005*  
Ostéite chronique  
ME

# Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes

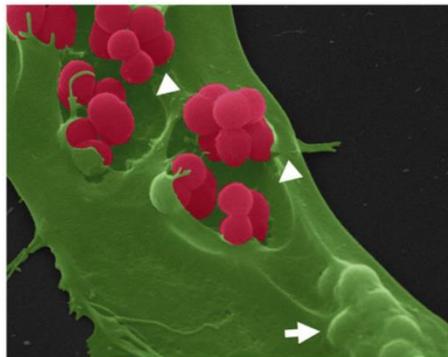
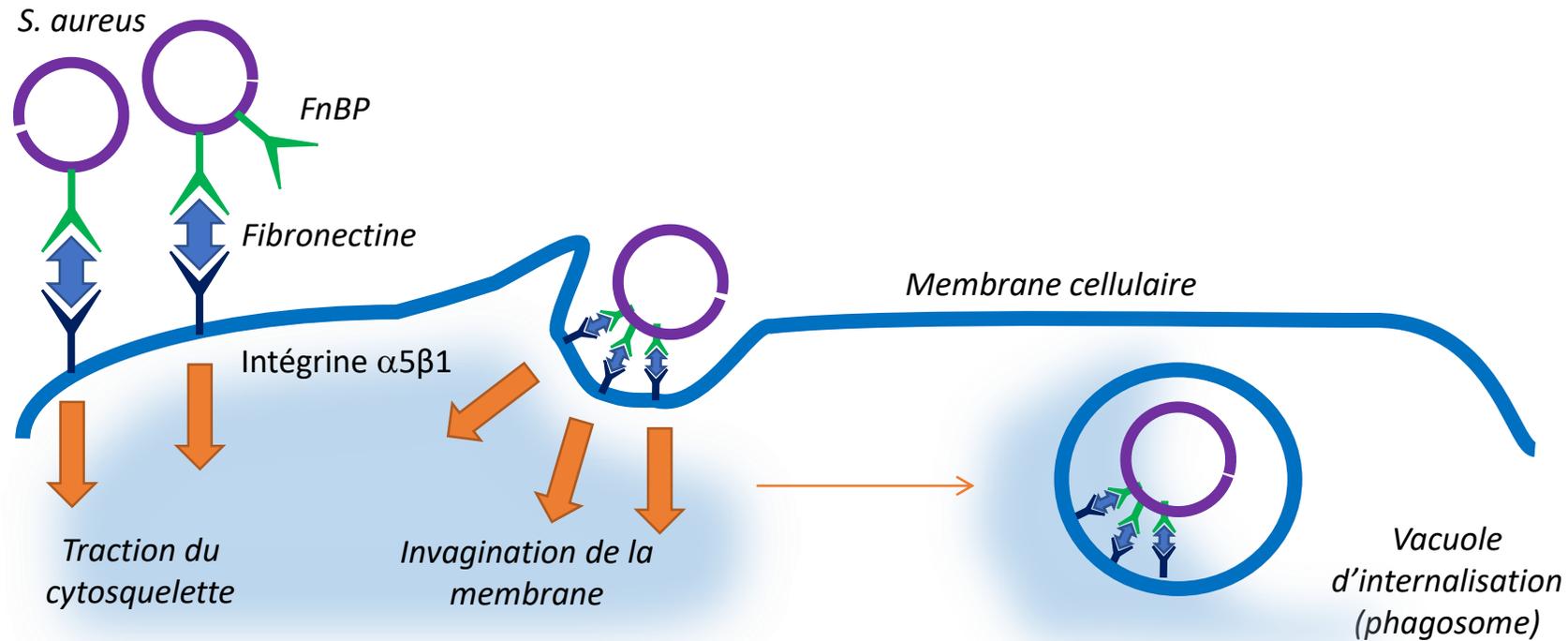


Microscopie électronique  
Hoffmann *et al.*  
Eur J Cell Biol 2011

# Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes



# Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes



Microscopie électronique  
Hoffmann *et al.*  
Eur J Cell Biol 2011

frontiers  
in Cellular and Infection Microbiology

REVIEW  
published: 26 November 2015  
doi: 10.3389/fcimb.2015.00085

## *Staphylococcus aureus* vs. Osteoblast: Relationship and Consequences in Osteomyelitis

Jérôme Josse, Frédéric Velard and Sophie C. Gangloff\*

EA 4691 Biomatériaux et inflammation en site osseux, Pôle Santé, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

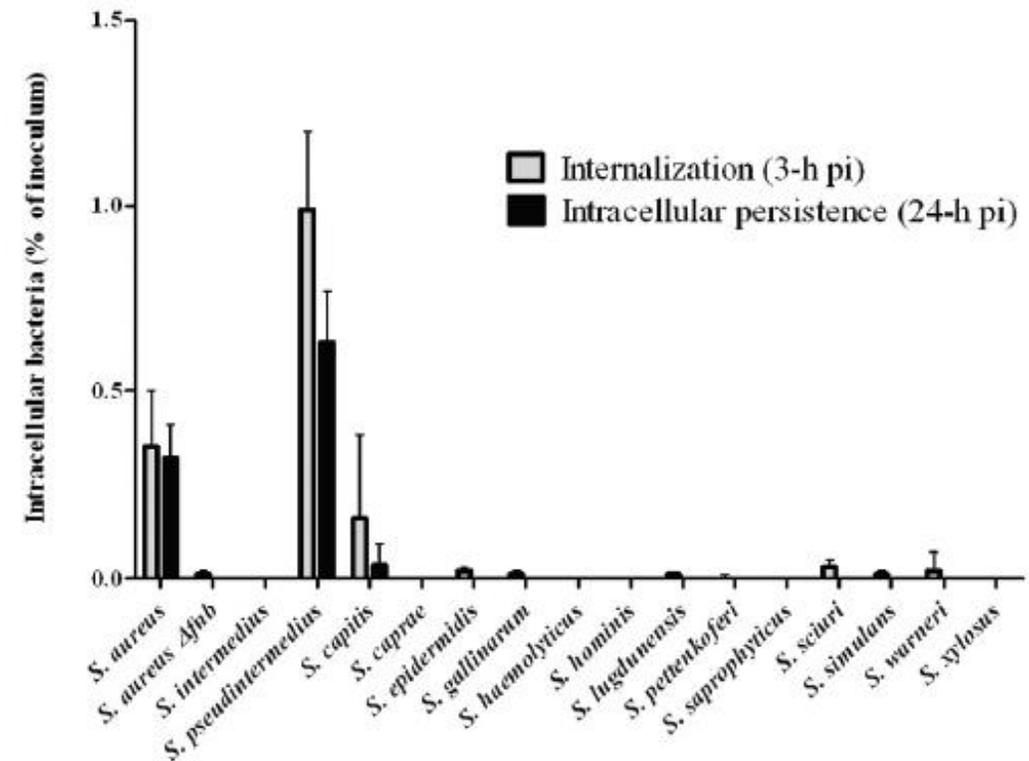
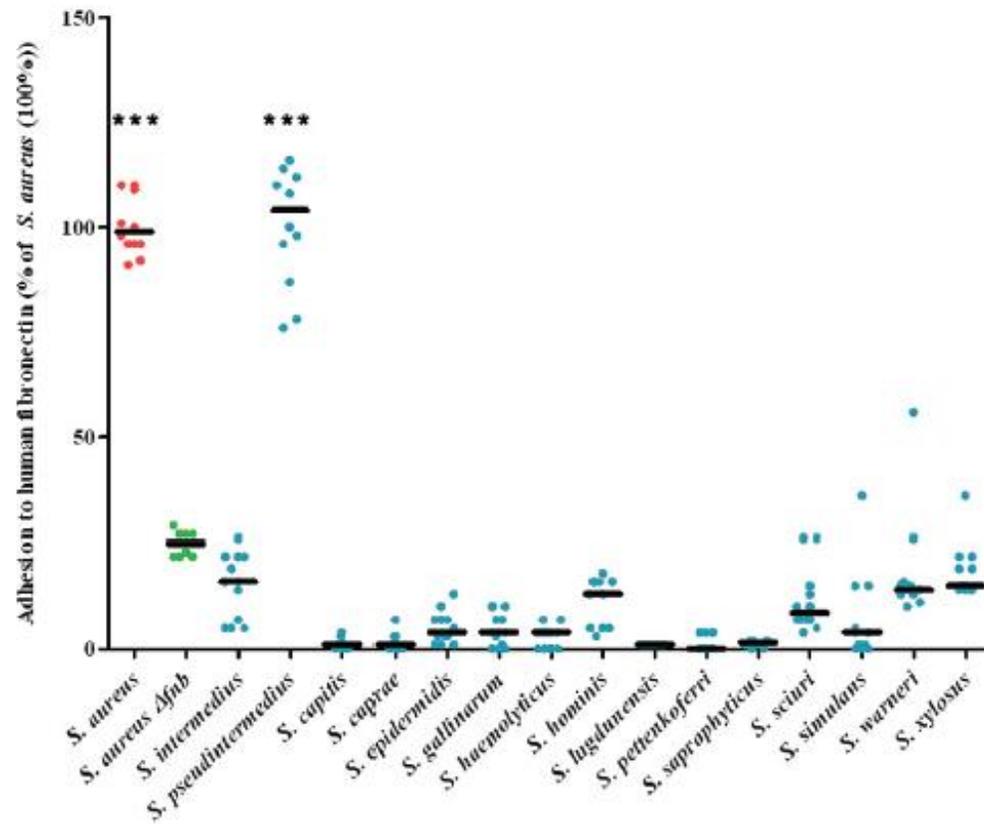
# Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes

## Pathophysiological Mechanisms of *Staphylococcus Non-aureus* Bone and Joint Infection: Interspecies Homogeneity and Specific Behavior of *S. pseudintermedius*

Yousef Maali<sup>1,2</sup>, Patricia Martins-Simões<sup>1,2</sup>, Florent Valour<sup>1,3</sup>, Daniel Bouvard<sup>4,5</sup>, Jean-Philippe Rasigade<sup>1,6</sup>, Michele Bes<sup>6</sup>, Marisa Haenni<sup>7</sup>, Tristan Ferry<sup>1,3</sup>, Frédéric Laurent<sup>1,2,6\*</sup> and Sophie Trouillet-Assant<sup>1,2†</sup>

Evaluation de l'adhésion et internalisation dans les ostéoblastes de 16 espèces de SCN (souches cliniques responsables d'IOA)

**Faible capacité d'internalisation et de persistance des SCN à l'exception de *S. pseudintermedius***





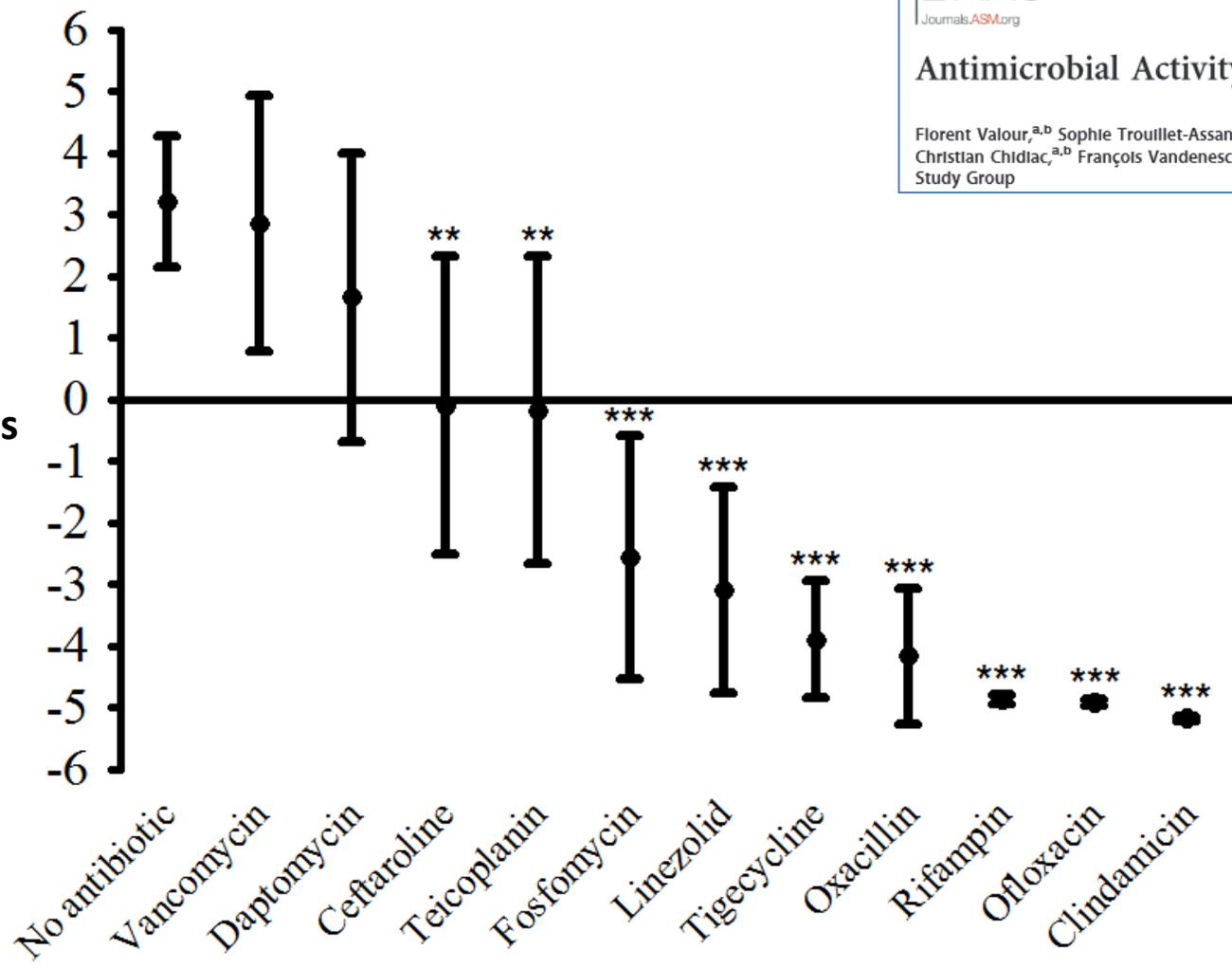
# Implications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

  
Journals.ASM.org

**Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus***

Florent Valour,<sup>a,b</sup> Sophie Trouillet-Assant,<sup>b</sup> Natacha Riffard,<sup>b</sup> Jason Tasse,<sup>b</sup> Sacha Flammier,<sup>b</sup> Jean-Philippe Rasigade,<sup>b,c</sup>  
Christian Chidiac,<sup>a,b</sup> François Vandenesch,<sup>b,c,d</sup> Tristan Ferry,<sup>a,b</sup> Frédéric Laurent,<sup>b,c,d</sup> on behalf of the Lyon Bone and Joint Infection Study Group

$\Delta\log_{10}$  pour  
100,000 cellules





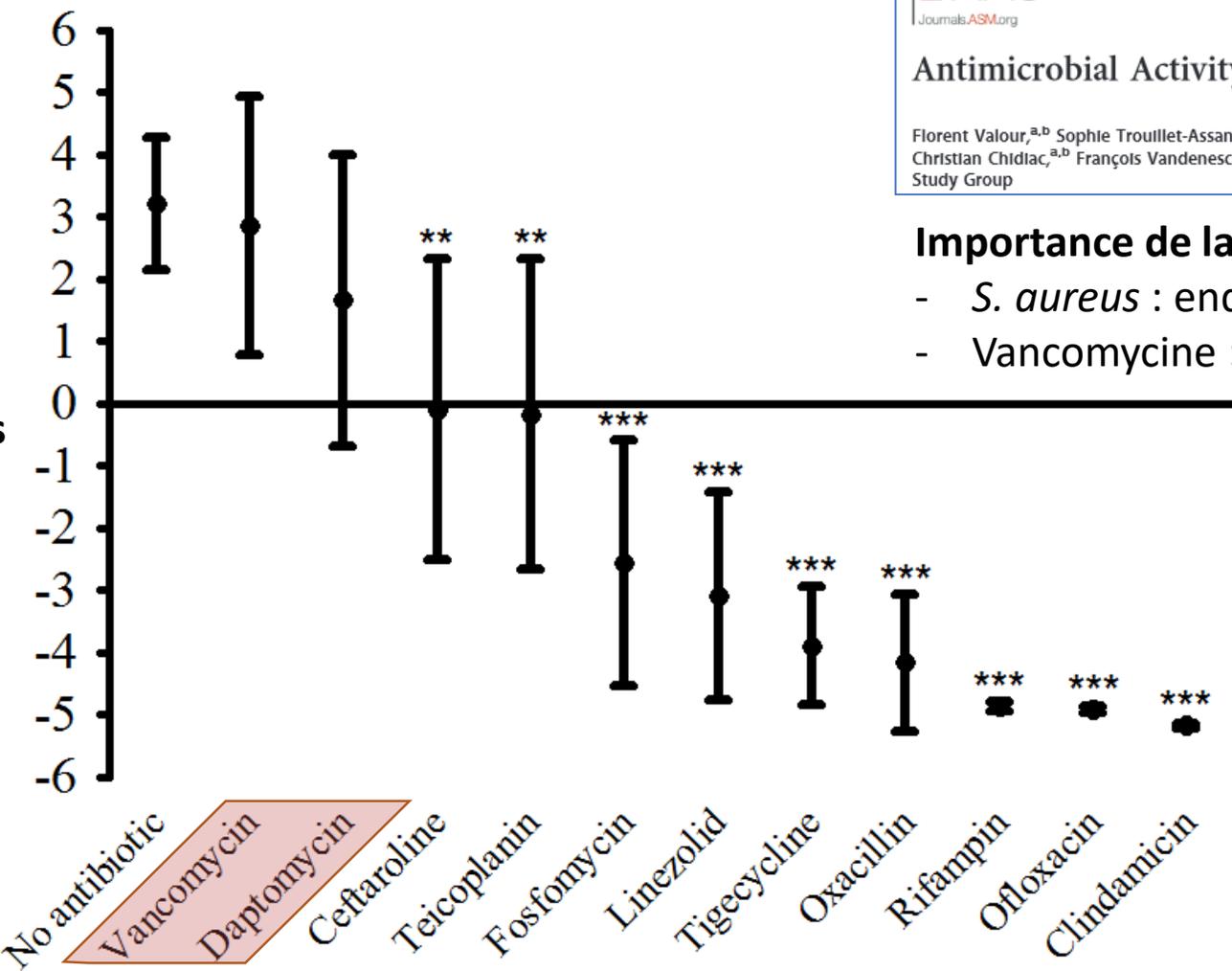
# Implications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

  
Journals.ASM.org

**Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus***

Florent Valour,<sup>a,b</sup> Sophie Trouillet-Assant,<sup>b</sup> Natacha Riffard,<sup>b</sup> Jason Tasse,<sup>b</sup> Sacha Flammier,<sup>b</sup> Jean-Philippe Rasigade,<sup>b,c</sup>  
Christian Chidiac,<sup>a,b</sup> François Vandenesch,<sup>b,c,d</sup> Tristan Ferry,<sup>a,b</sup> Frédéric Laurent,<sup>b,c,d</sup> on behalf of the Lyon Bone and Joint Infection Study Group

$\Delta\log_{10}$  pour  
100,000 cellules



**Aucune  
action**

## Importance de la localisation intra-cellulaire

- *S. aureus* : endolysosomal, cytoplasme (30%)
- Vancomycine : très lente diffusion lysosomale



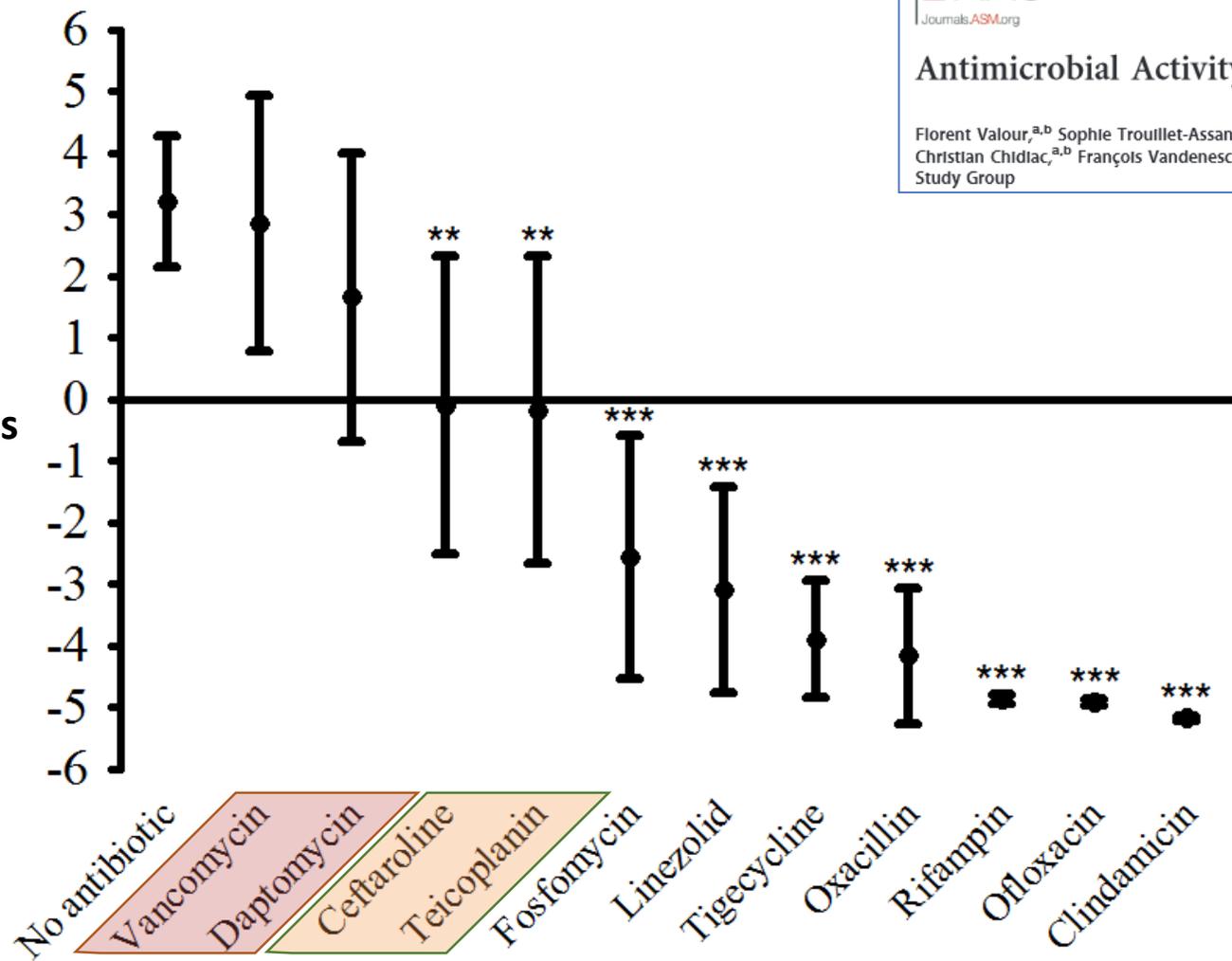
# Implications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

 AAC  
Journals.ASM.org

Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

Florent Valour,<sup>a,b</sup> Sophie Trouillet-Assant,<sup>b</sup> Natacha Riffard,<sup>b</sup> Jason Tasse,<sup>b</sup> Sacha Flammier,<sup>b</sup> Jean-Philippe Rasigade,<sup>b,c</sup>  
Christian Chidiac,<sup>a,b</sup> François Vandenesch,<sup>b,c,d</sup> Tristan Ferry,<sup>a,b</sup> Frédéric Laurent,<sup>b,c,d</sup> on behalf of the Lyon Bone and Joint Infection Study Group

$\Delta\log_{10}$  pour  
100,000 cellules



**Aucune** bacterio  
**action** STATIQUE



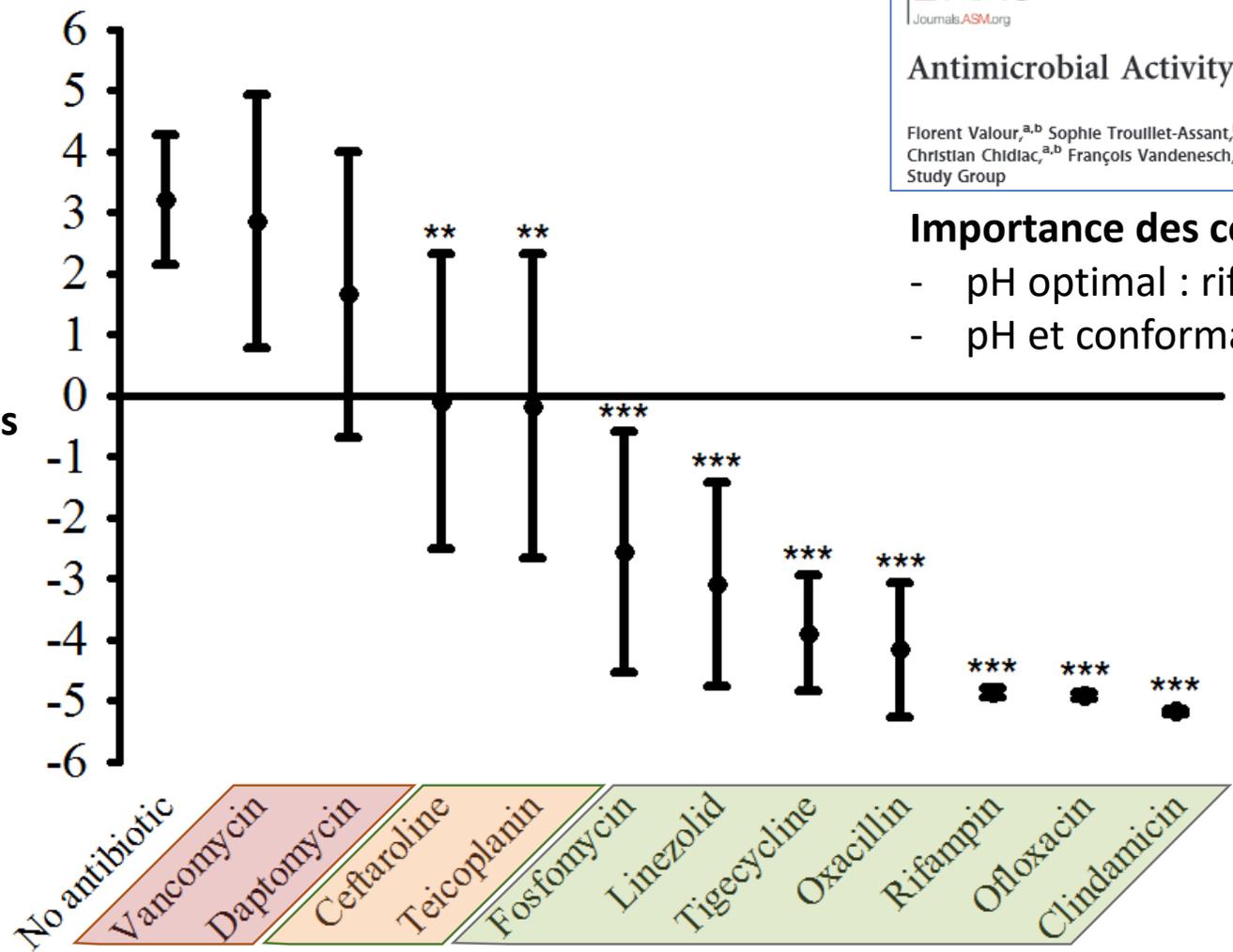
# Implications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

  
Journals.ASM.org

**Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus***

Florent Valour,<sup>a,b</sup> Sophie Trouillet-Assant,<sup>b</sup> Natacha Riffard,<sup>b</sup> Jason Tasse,<sup>b</sup> Sacha Flammier,<sup>b</sup> Jean-Philippe Rasigade,<sup>b,c</sup>  
Christian Chidiac,<sup>a,b</sup> François Vandenesch,<sup>b,c,d</sup> Tristan Ferry,<sup>a,b</sup> Frédéric Laurent,<sup>b,c,d</sup> on behalf of the Lyon Bone and Joint Infection Study Group

$\Delta\log_{10}$  pour  
100,000 cellules

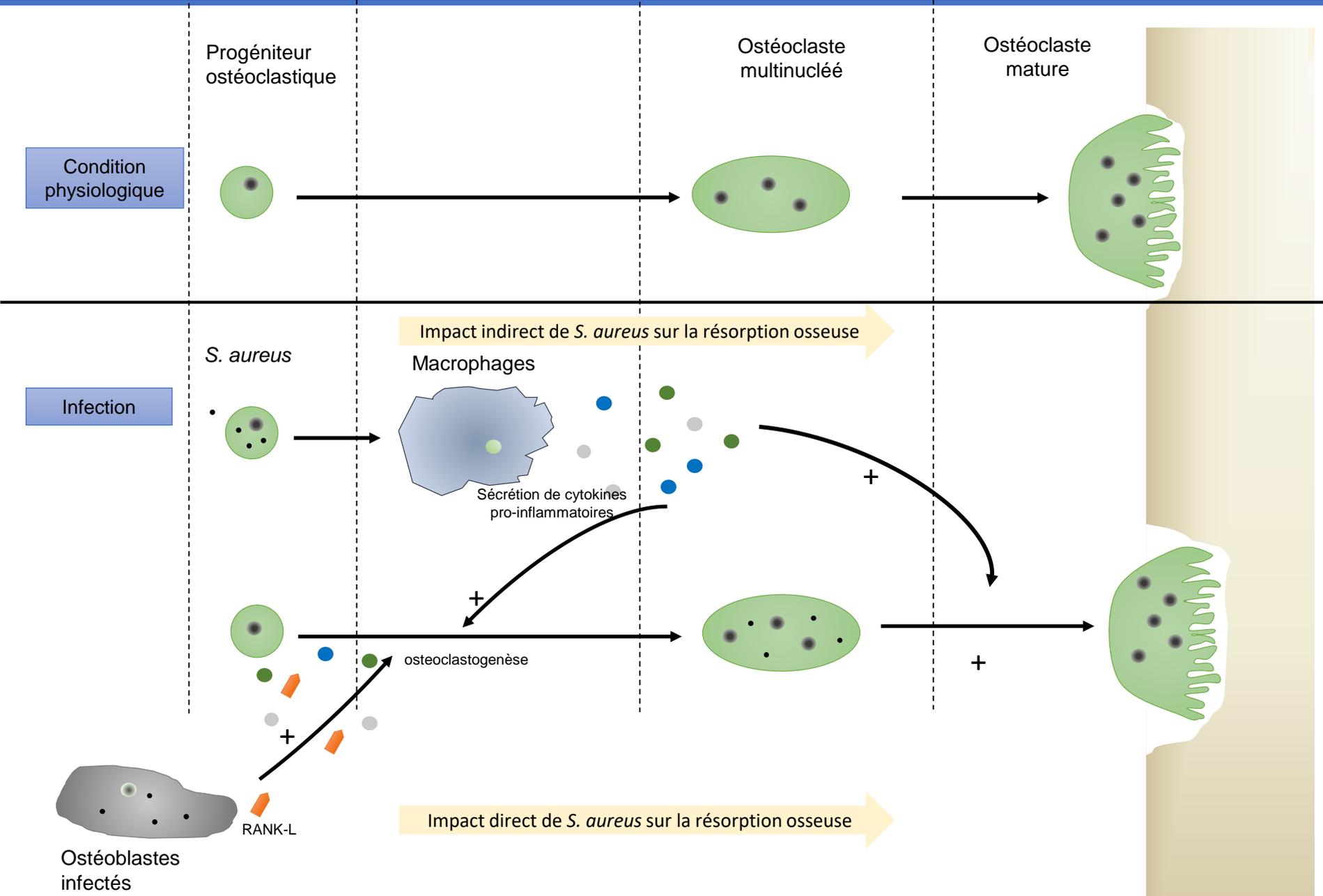


## Importance des conditions physico-chimiques

- pH optimal : rifampicine
- pH et conformation PLP : oxacilline

**Aucune action**    **bacterio STATIQUE**    **BACTERICIDIE**

# Interactions avec les cellules osseuses : ostéoClastes

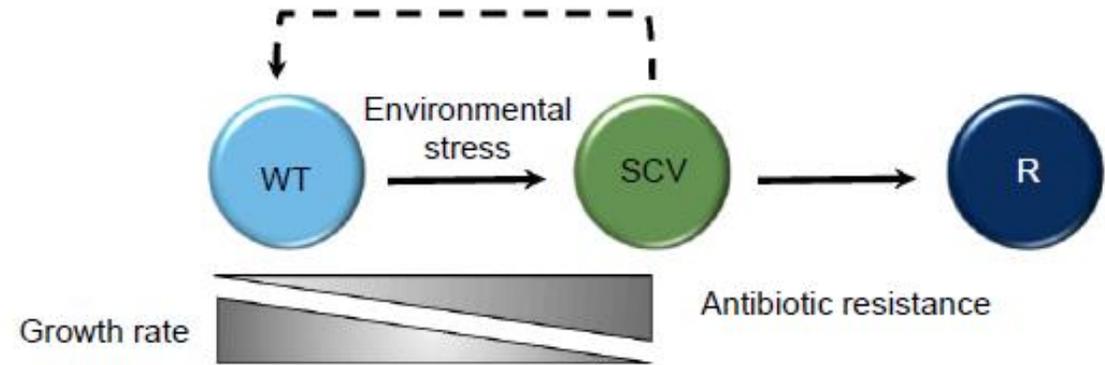


# Small colonic variants (SCVs)

## Modifications phénotypiques réversibles

### Adaptation à un environnement hostile : os, biofilm, intracellulaire

- Croissance lente (temps de doublement x 10)
- Petites colonies atypiques
- Résistance accrue aux antibiotiques
- Adhérence +++
- Survie intracellulaire +++
- Révertant



### *Staphylococcus aureus* Small Colony Variants in Prosthetic Joint Infection

Parham Sendi,<sup>1</sup> Markus Rohrbach,<sup>2</sup> Peter Graber,<sup>1</sup> René Frei,<sup>3</sup> Peter E. Ochsner,<sup>2</sup> and Werner Zimmerli<sup>1</sup>

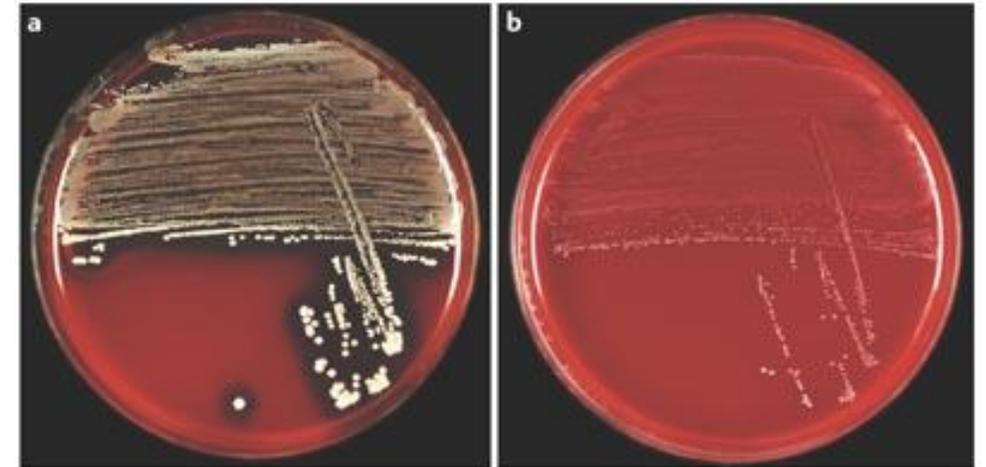
<sup>1</sup>Unit of Infectious Diseases, Basel University Medical Clinic, Liestal and <sup>2</sup>Clinic of Orthopedic Surgery, Kantonsspital, Liestal, and <sup>3</sup>Microbiology Laboratory, University Hospital Basel, Basel, Switzerland

Sendi et al. *Clin Infect Dis.* 2006

Décrits dans de nombreuses situations cliniques (IOA, infections / matériel, mucoviscidose ...)

... et chez de nombreuses espèces

(staphylocoques, *Pseudomonas*, *E. coli*, *P. acnes* ...)



# Small colonic variants (SCVs)

*J Antimicrob Chemother* 2013; **68**: 1455–1464  
doi:10.1093/jac/dkt072 Advance Access publication 13 March 2013

Journal of  
Antimicrobial  
Chemotherapy

## Antibiotic activity against small-colony variants of *Staphylococcus aureus*: review of *in vitro*, animal and clinical data

Laetitia G. Garcia<sup>1</sup>, Sandrine Lemaire<sup>1</sup>, Barbara C. Kahl<sup>2</sup>, Karsten Becker<sup>2</sup>, Richard A. Proctor<sup>3</sup>, Olivier Denis<sup>4</sup>,  
Paul M. Tulkens<sup>1</sup> and Françoise Van Bambeke<sup>1\*</sup>

### Données *in vitro*

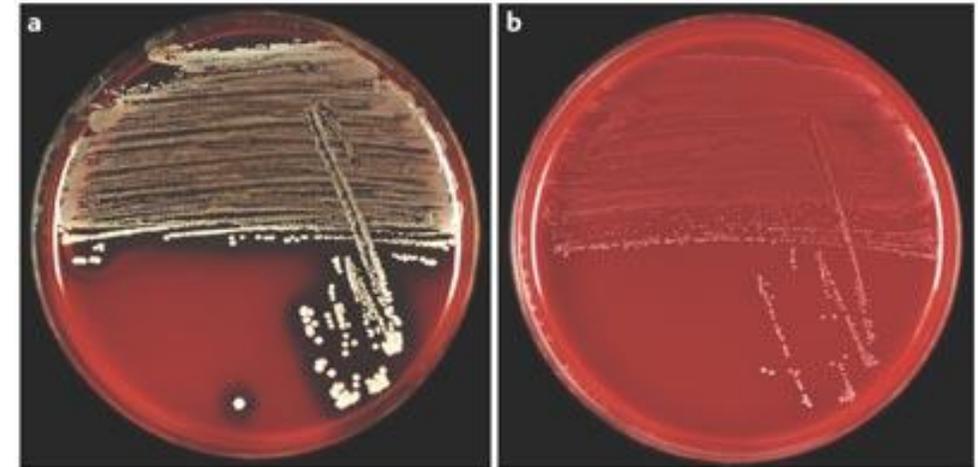
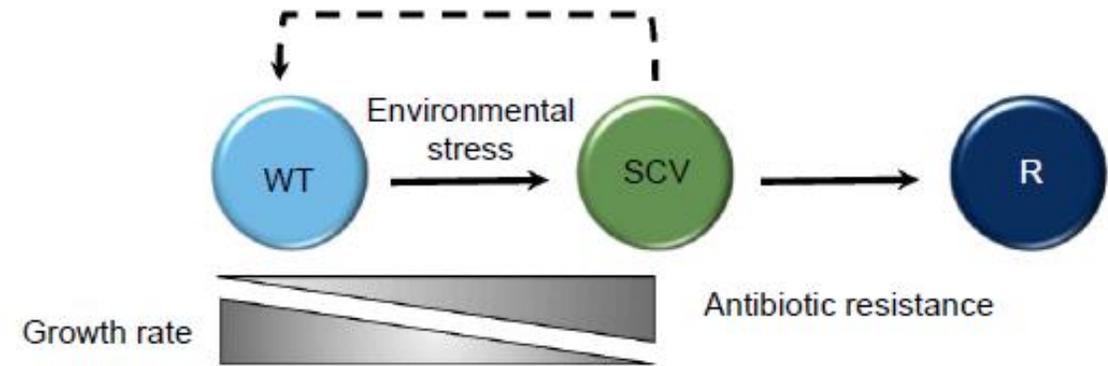
Limites - caractère révertant  
- CMI développées pour bactéries à croissance rapide

### Réduction d'activité

- aminoside +++
- cotrimoxazole +++
- ATB actifs sur la paroi : BL, GP, DAP

Données *in vivo* : conflictuelles +++

Très peu de données cliniques



# Small colonie variants (SCVs)

## Clinical Characteristics and Outcomes of Prosthetic Joint Infection Caused by Small Colony Variant Staphylococci

Aaron J. Tande,<sup>a,b</sup> Douglas R. Osmon,<sup>a</sup> Kerryll E. Greenwood-Quaintance,<sup>b</sup> Tad M. Mabry,<sup>c</sup> Arlen D. Hanssen,<sup>c</sup> Robin Patel<sup>a,b,d</sup>

mBio September/October 2014 Volume 5 Issue 5 e01910-14

Retrospective series of 113 patients with staphylococcal PJI, with prospective testing of archived sonicate fluid samples

38 subjects (34%) with SCVs and 75 (66%) with only normal-phenotype (NP) bacteria

Characteristic <sup>d</sup>	SCV <sup>b</sup>		P value
	Yes (n = 38)	No (n = 75)	
<b>Orthopedic history</b>			
Joint age in days, median (range)	1,295 (216–13,712)	646 (23–11,883)	0.007
Prior arthroplasty revision	32 (84.2)	52 (70.3)	0.17
Time since last surgery in days, median (range)	743 (31–10,030)	306 (20–8,686)	<0.0001
Cemented arthroplasty	33 (86.8)	60 (80.0)	0.44
Antibiotic-loaded cement in place <sup>a</sup>	8 (44.4)	16 (39.0)	0.78
Aminoglycoside in cement <sup>a</sup>	7 (38.9)	8 (19.5)	0.19
<b>PJI history</b>			
Sinus tract	11 (28.9)	19 (25.3)	0.82
Duration of PJI symptoms in days, median (range)	491 (14–2,306)	165 (2–1,656)	0.0003
Prior surgery for this PJI	23 (60.5)	28 (37.3)	0.03
Cumulative antibiotic days in prior 6 mo, median (range)	66 (0–180)	13 (0–180)	0.37
Receiving 120 or more days of antibiotics in prior 6 mo	16 (42.1)	17 (22.7)	0.048
Serum WBC in 10 <sup>9</sup> cells/liter, median (range)	7.4 (4.5–11.7)	7.9 (3–23.3)	0.13
Serum ESR in mm/h, median (range)	46 (5–111)	43 (3–123)	0.54
Serum CRP in mg/liter, median (range)	23 (5–222)	44 (3–269)	0.2
<b>Preoperative SF aspirate</b>			
SF WBC in cells/ $\mu$ l, median (range)	26 (68.4)	51 (68.0)	0.13
SF neutrophil %, median (range)	28,574 (8,175–155,000)	44,275 (629–1,071,472)	0.13
SF neutrophil %, median (range)	88 (79–98)	91 (51–100)	0.84

# Small colonie variants (SCVs)

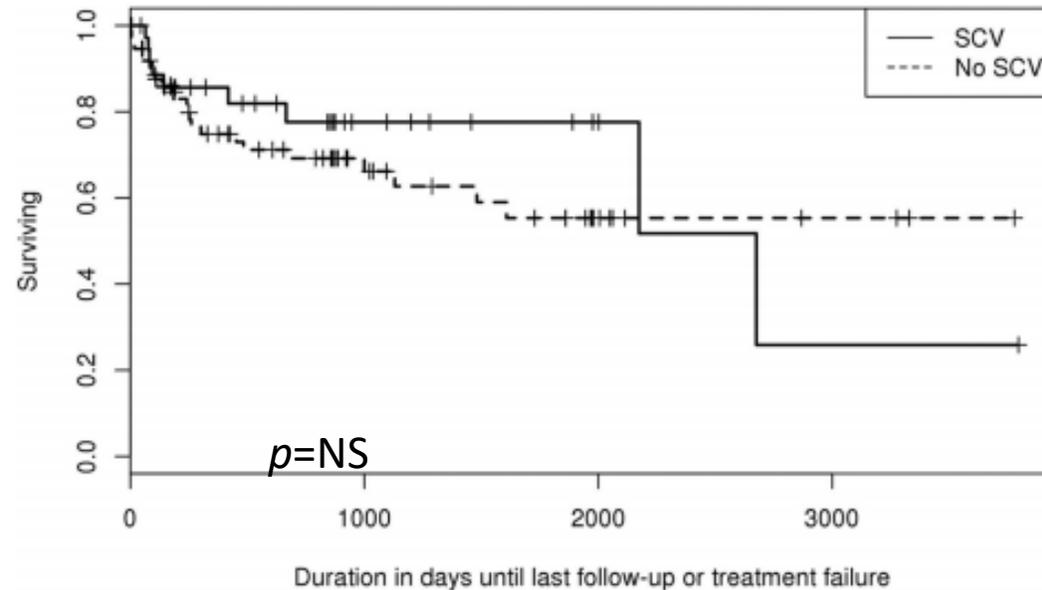
## Clinical Characteristics and Outcomes of Prosthetic Joint Infection Caused by Small Colony Variant Staphylococci

Aaron J. Tande,<sup>a,b</sup> Douglas R. Osmon,<sup>a</sup> Kerryl E. Greenwood-Quaintance,<sup>b</sup> Tad M. Mabry,<sup>c</sup> Arlen D. Hanssen,<sup>c</sup> Robin Patel<sup>a,b,d</sup>

mBio September/October 2014 Volume 5 Issue 5 e01910-14

Retrospective series of 113 patients with staphylococcal PJI, with prospective testing of archived sonicate fluid samples

38 subjects (34%) with SCVs and 75 (66%) with only normal-phenotype (NP) bacteria



Treatment failure predictive factor = *S. aureus* (HR, 4.03; 95%CI, 1.80-9.04)

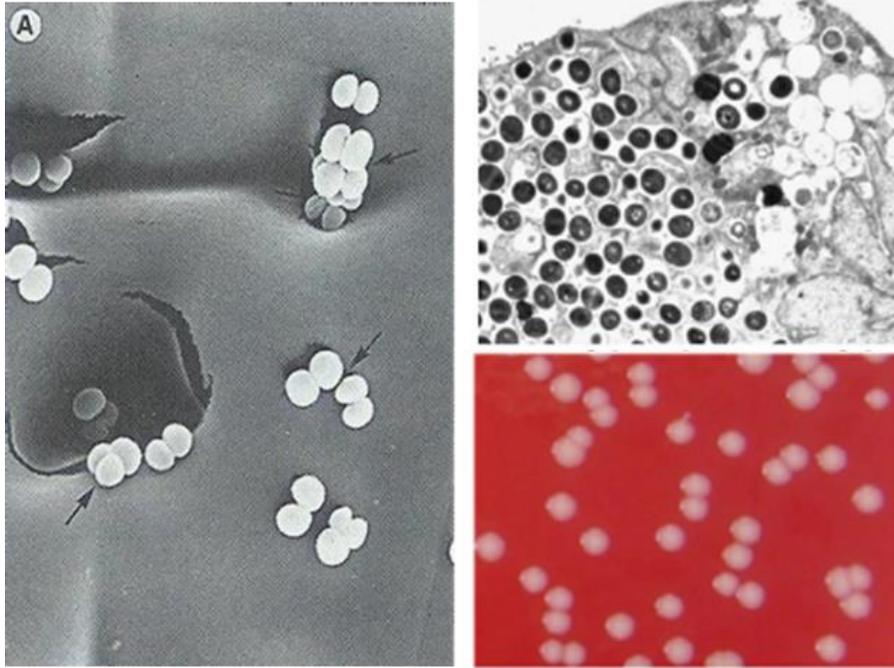
SCVs associés à la chronicité sans impact sur le pronostic

## Adaptation bactérienne

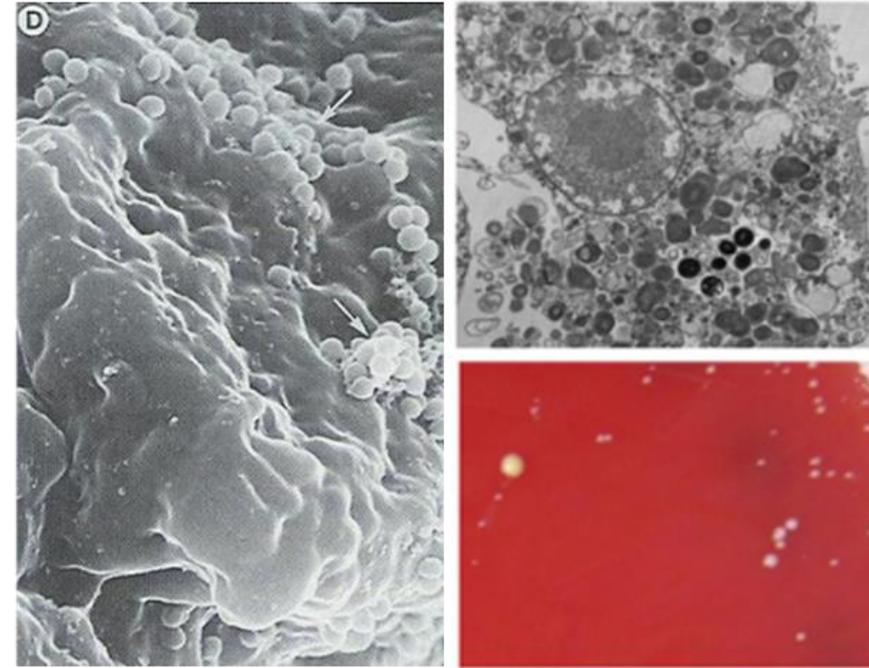
IOA aiguë



IOA chronique



Biofilm  
Persistance  
intracellulaire  
SCVs



↑ Toxines

↓ Adhésines

↓ Toxines

↑ Adhésines

Agression tissulaire

Réponse immunitaire / inflammatoire

- Destruction cellulaire
- Invasion et destruction tissulaire

↓ Inflammation, dommages tissulaires

- Échappement au système immunitaire
- « Tolérance » aux antibiotiques



**DEBRIDEMENT, ABLATION MATERIEL**  
**CHOIX DES ANTIBIOTIQUES : rmp, fq, dap**  
**THERAPEUTIQUES CIBLEES ?**

# Remerciements : Lyon BJI study group

---

**Coordinator: Tristan Ferry**

**Infectious Diseases Specialists** – Tristan Ferry, Florent Valour, Thomas Perpoint, Florence Ader, Sandrine Roux, Claire Triffault-Fillit, Agathe Becker, Anne Conrad, Marielle Perry, Cécile Pouderoux, Nicolas Benech, Pierre Chauvelot, Johanna Lippman, Evelyne Braun, Christian Chidiac

**Surgeons** – **Sébastien Lustig**, Elvire Servien, Cécile Batailler, Stanislas Gunst, Axel Schimdt, Matthieu Malatray, Eliott Sappey-Marinier, Michel-Henry Fessy, Anthony Viste, Jean-Luc Besse, Philippe Chaudier, Lucie Louboutin, Quentin Ode, Adrien Van Haecke, Marcelle Mercier, Vincent Belgaid, Arnaud Walch, Sébastien Martres, Franck Trouillet, Cédric Barrey, Ali Mojallal, Sophie Brosset, Camille Hanriat, Hélène Person

**Microbiologists** – **Frederic Laurent**, Céline Dupieux, Laetitia Berraud, Camille Kolenda, Jérôme Josse, Tiphaine Roussel-Gaillard

**Nuclear Medicine** – Isabelle Morelec, Marc Janier, Francesco Giammarile

**PK/PD specialists** – Michel Tod, Marie-Claude Gagnieu, Sylvain Goutelle

**Clinical Research Assistant** – Eugénie Mabrut



<http://www.crioac-lyon.fr>



# DR. JEKYLL and MR. HYDE

